

**BEATRIZ ERN DA SILVEIRA**

**Morfometria geométrica comparativa de asas de  
Sarcophagidae (Diptera) de interesse forense:  
uma ferramenta eficaz para a identificação?**

Dissertação apresentada à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Área de Concentração em Entomologia) da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Claudio José Barros de Carvalho

Co-orientador: Prof. Dr. Mauricio Osvaldo Moura

Curitiba

2011

*Dedico esse trabalho aos meus pais.*

*Sem vocês nada seria possível.*

## **AGRADECIMENTOS**

Curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Área de Concentração em Entomologia) da Universidade Federal do Paraná, pela oportunidade de realização do curso.

A CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pela concessão da bolsa.

Ao professor Claudio J. B. de Carvalho pela orientação nesses cinco anos, incentivo e as 'pegações no pé' quando necessárias.

Ao professor Mauricio O. Moura pela super co-orientação e auxílio com todas as análises morfométricas.

Ao Jaime I. Rodríguez Fernández por ser sempre aquele super herói, me salvando das enrascadas da vida. Dessa vez em versão morfométrica.

Ao Marcelo Costa pela mega ajuda com matrizes e mais matrizes. Ajuda excepcional. Obrigada!

Ao Rafael Arcanjo por todo o apoio em toda a época de coletas e na execução das armadilhas. Valeu por tudo! Não vou esquecer.

A todo o pessoal do Laboratório de Biodiversidade e Biogeografia de Diptera. Não vou citar nomes, porque é muita gente em todos esses mais de cinco anos. Agradeço muito pelas valiosas discussões nos Chás e todo o aprendizado nesse tempo todo de convivência.

Às minhas queridas amigas dipterólogas Kirsten L. F. Haseyama e Diana L. G. Ochoa, por todo o companheirismo, ajuda e principalmente pelas risadas.

Aos colegas do curso de Pós-graduação, pelos momentos agradáveis que passamos juntos. Em especial à Grazielle Weiss, ao Laércio P. A. Neto e Daniel P. Moura. Mais que colegas, são grandes amigos.

A todos os meus amigos que sempre me apoiaram. Não vou citar nomes porque é muita gente. Mas obrigado pelas viagens, conversas de bar, risadas e chororôs. Amo vocês!

Por último e talvez o mais importante. A toda a minha família, por tudo o que representa na minha vida. E não é pouco não. Vocês são tudo! Agradeço principalmente aos meus pais Joceli M. E. da Silveira e Ubaldo A. da Silveira. Obrigada por tudo. Por todo o apoio incondicional e por todo o carinho.

Muito obrigada!

## RESUMO

### **Morfometria geométrica comparativa de asas de Sarcophagidae (Diptera) de interesse forense: uma ferramenta eficaz para a identificação?**

A morfometria geométrica é uma técnica que descreve e representa a geometria das formas estudadas e que permite, entre outras coisas, a realização de discriminação interespecífica. No presente trabalho buscou-se implementar a técnica da morfometria geométrica como ferramenta para a identificação de espécies de Diptera da família Sarcophagidae. A aplicação dessa técnica apresenta grande relevância, pois a morfologia externa dessas moscas possui características muito uniformes, podendo ser realizada a identificação taxonômica específica apenas através da análise da morfologia da terminália masculina. Isso faz com que as espécies de Sarcophagidae (que devido aos hábitos saprófagos apresentados por grande parte dos indivíduos são consideradas muito importantes para as análises em entomologia forense) sejam consideradas de complexa identificação. Para tanto, um total de 262 indivíduos de cinco espécies (*Microcerella halli*, *Oxysarcodexia culmiforceps*, *O. paulistanensis*, *O. riograndensis*, *O. thornax*) foram analisados através de diversos métodos morfométricos e distintas estratégias multivariadas (Análise Discriminante, Análise de Variância Canônica, ANOVA de Procrustes, MANOVA e Tamanho do Centróide). Essas análises visaram determinar a localização das variações nas asas, no que essas variações influenciam, qual o índice de variação de cada grupo, realizar a descrição das formas das asas comparando as espécies e verificar a similaridade morfológica entre elas. Notou-se através das análises grande disparidade dos valores estatísticos obtidos, que demonstraram diferenças pronunciadas de conformação, dimensão e diferenças pontuais entre as asas. Todos esses resultados foram satisfatórios, acarretando em um ótimo funcionamento da técnica na diferenciação dos gêneros, espécies e sexos das cinco espécies estudadas. Por se tratar de uma técnica rápida, de baixo custo e de simples utilização, a morfometria geométrica aliada à taxonomia, pode promover maior robustez às análises de Sarcophagidae, auxiliando a delimitação de espécies.

**Palavras chave:** Asas, Diptera, Entomologia forense, Método de Procrustes, Morfometria geométrica, Sarcophagidae.

## ABSTRACT

### **Geometric morphometric comparison of the wings of Sarcophagidae (Diptera) of forensic interest: an effective tool for identification?**

The geometric morphometry is a technique that describes and represents the geometry of the forms studied and which allows, among other things, the performance of interspecific discrimination. In this study has sought to implement the technique of geometric morphometrics as a tool for identifying species of Diptera of the family Sarcophagidae. The application of this technique is highly relevant, because the external morphology of these flies have very uniform characteristics and can be performed only by taxonomic identification of the specific analysis of the morphology of male terminalia. This makes the species of Sarcophagidae (that due to the habits saprophages presented by most individuals are considered very important for analysis in forensic entomology) are considered complex identification. Thus, a total of 262 individuals from five species (*Microcerella halli*, *Oxysarcodexia culmiforceps*, *O. paulistanensis*, *O. riograndensis*, *O. thornax*) were analyzed using different morphometric methods and different multivariate strategies (Discriminant Analysis, Canonical Variate Analysis, Procrustes ANOVA, MANOVA and Centroid Size). These tests aimed at determining the location of the variations in the wings, the influence of these variations, which is the rate of variation in each group, perform the description of the shapes of the wings compared to verify the species and morphological similarities between them. It was noted through the analysis of the wide disparity statistical values obtained, which showed pronounced differences in conformation, size and certain differences between the wings. All these results were satisfactory, resulting in an optimal functioning of the technique in the differentiation of genera, species and sex of the five species studied. Because it is a fast, inexpensive and simple technique to use, geometric morphometry combined with the taxonomy, can promote greater robustness to the analysis of Sarcophagidae, helping the delimitation of species.

**Keywords:** Diptera, Forensic entomology, Geometric morphometry, Procrustes method, Sarcophagidae.

## LISTA DE ABREVIATURAS

### **Veias**

A<sub>1</sub> - Anal 1.

C - Costa.

CuA - Cubital anterior.

CuA<sub>1</sub> - Cubital anterior 1.

CuA<sub>2</sub> - Cubital anterior 2.

M - Média.

R - Radial.

R<sub>1</sub> - Radial anterior 1.

R<sub>2+3</sub> - Radial 2+3.

R<sub>4+5</sub> - Radial 4+5.

Sc - Subcostal

### **Veias transversais**

bm-cu - Basal mediana cubital.

dm-cu - Discal mediana cubital.

h - Humeral

r-m - Rádio mediana.

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Número e sexo dos indivíduos de cada espécie utilizados para as análises morfométricas .....	11
<b>Tabela 2:</b> Descrição dos marcos anatômicos das asas dos espécimes pertencentes às cinco espécies de Sarcophagidae .....	12
<b>Tabela 3:</b> Resumo da Análise de Variância Multivariada entre machos dos gêneros <i>Microcerella</i> e <i>Oxysarcodexia</i> . Sendo que GL representa os graus de liberdade e GL Den. os graus de liberdade do denominador .....	19
<b>Tabela 4:</b> Resumo da análise de tamanho do centróide pela ANOVA de Procrustes entre machos dos gêneros <i>Oxysarcodexia</i> e <i>Microcerella</i> . Os classificadores extraídos dos dados foram gênero, indivíduo e repetição. Sendo que SQ representa as somas dos quadrados, QM os quadrados médios e GL os graus de liberdade .....	20
<b>Tabela 5:</b> Resumo da análise de conformação pela ANOVA de Procrustes entre os machos de <i>Oxysarcodexia</i> e <i>Microcerella</i> . Os classificadores extraídos dos dados foram gênero, indivíduo e repetição. Sendo que SQ representa as somas dos quadrados, QM os quadrados médios e GL os graus de liberdade .....	20
<b>Tabela 6:</b> Resumo da Análise de Variáveis Canônicas entre machos dos gêneros <i>Oxysarcodexia</i> e <i>Microcerella</i> .....	21
<b>Tabela 7:</b> Resumo da análise discriminante par a par entre os gêneros <i>Microcerella</i> e <i>Oxysarcodexia</i> . <i>Microcerella</i> está representado por MIC e <i>Oxysarcodexia</i> por OXY .....	24
<b>Tabela 8:</b> Resumo da Análise de Variância Multivariada entre os machos das espécies <i>O. culmiforceps</i> , <i>O. paulistanensis</i> , <i>O. riograndensis</i> e <i>O. thornax</i> .....	27
<b>Tabela 9:</b> Resumo da análise de tamanho do centróide pela ANOVA de Procrustes entre machos de <i>O. culmiforceps</i> , <i>O. paulistanensis</i> , <i>O. riograndensis</i> e <i>O. thornax</i> . Os classificadores extraídos dos dados foram espécie, indivíduo e repetição. Sendo que SQ representa as somas dos quadrados, QM os quadrados médios e GL os graus de liberdade .....	28



<b>Tabela 10:</b> Resumo da análise de conformação pela ANOVA de Procrustes entre os machos de <i>O. culmiforceps</i> , <i>O. paulistanensis</i> , <i>O. riograndensis</i> e <i>O. thornax</i> . Os classificadores extraídos dos dados foram espécie, indivíduo e repetição. Sendo que SQ representa as somas dos quadrados, QM os quadrados médios e GL os graus de liberdade .....	28
<b>Tabela 11:</b> Resumo da Análise de Variáveis Canônicas entre machos de <i>Oxysarcodexia culmiforceps</i> , <i>O. paulistanensis</i> , <i>O. riograndensis</i> e <i>O. thornax</i> .....	29
<b>Tabela 12:</b> Resumo da análise discriminante par a par para os gêneros <i>Microcerella</i> e <i>Oxysarcodexia</i> . C - <i>O. culmiforceps</i> ; P - <i>O. paulistanensis</i> ; R - <i>O. riograndensis</i> ; T - <i>O. thornax</i> .....	37
<b>Tabela 13:</b> Resumo da Análise de Variância Multivariada entre machos e fêmeas da espécie <i>M. halli</i> . Sendo que GL representa os graus de liberdade e GL Den. os graus de liberdade do denominador.....	38
<b>Tabela 14:</b> Resumo da análise de tamanho do centróide pela ANOVA de Procrustes entre machos e fêmeas de <i>Microcerella halli</i> . Os classificadores extraídos dos dados foram sexo, indivíduo e repetição. Sendo que SQ representa as somas dos quadrados, QM os quadrados médios e GL os graus de liberdade .....	38
<b>Tabela 15:</b> Resumo da análise de conformação pela ANOVA de Procrustes entre machos e fêmeas de <i>Microcerella halli</i> . Os classificadores extraídos dos dados foram sexo, indivíduo e repetição. Sendo que SQ representa as somas dos quadrados, QM os quadrados médios e GL os graus de liberdade .....	39
<b>Tabela 16:</b> Resumo da Análise de Variáveis Canônicas entre machos e fêmeas de <i>Microcerella halli</i> .....	40
<b>Tabela 17.</b> Resumo da Análise de Variáveis Canônicas entre machos de <i>Oxysarcodexia</i> e machos e fêmeas de <i>Microcerella</i> .....	44

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Mapa do estado do Paraná indicando o município de Curitiba. No detalhe, em branco a localização do Paraná dentro do território brasileiro ..... 8
- Figura 2:** Armadilha Shannon modificada sobre o substrato suíno, instalada dentro do Centro Politécnico da UFPR em Curitiba. Fonte: Beatriz E. da Silveira ..... 9
- Figura 3:** **A** - Método de distensão da genitália masculina dos indivíduos coletados. **B** - Processo de identificação taxonômica dos exemplares montados e etiquetados. Fonte: Beatriz E. da Silveira (2010) ..... 10
- Figura 4:** **A** - Caixa contendo as lâminas semi-permanentes elaboradas com as asas destacadas. **B** - Captura e digitalização das imagens obtidas a partir das lâminas. Fonte: Beatriz E. da Silveira (2010) ..... 11
- Figura 5:** **A** - Vista dorsal da asa direita de *Oxysarcodexia thornax* com a posição dos 19 marcos anatômicos. **B** - Representação gráfica do consenso e eixos alares formados pelos 19 marcos anatômicos ligados por linhas para facilitar a visualização. Os pontos representam os marcos e a numeração corresponde à ordem de ingress destes. Fonte: Beatriz E. da Silveira (2010) ..... 13
- Figura 6:** Gráficos de variação de tamanhos de centróide dos gêneros *Microcerella* e *Oxysarcodexia*. Nota-se que os tamanhos de centróide de *Microcerella* (representado pela espécie *M. halli*) possui valores superiores aos de *Oxysarcodexia* (representado pelas espécies *O. culmiforceps*, *O. paulistanensis*, *O. riograndensis*, *O. thornax*) ..... 21
- Figura 7:** Histograma de distribuição dos indivíduos ao longo da CV1 resultante da comparação entre as asas dos machos dos gêneros *Microcerella* e *Oxysarcodexia*. *Microcerella* está representado pelas barras mais claras e *Oxysarcodexia* pelas mais escuras. Notar que há grande diferenciação entre os gêneros e nenhuma sobreposição entre eles ..... 22
- Figura 8:** Diagramas de deformações derivados da CV1 resultante da comparação entre as asas dos machos dos gêneros *Microcerella* e *Oxysarcodexia* **A** - Representação do extremo negativo, onde há maior distribuição de *Microcerella*. Os vetores escuros representam as direções das deformações da configuração do gênero em relação à configuração consenso e a grade clara representa as deformações nas asas de *Microcerella*. **B** - Representação do

extremo positivo, onde há maior distribuição de *Oxysarcodexia*. Os vetores escuros representam as direções das deformações da configuração do gênero em relação à configuração consenso e a grade clara representa as deformações nas asas de *Oxysarcodexia*

..... 23

**Figura 9:** Reconstruções gráficas das asas derivadas das deformações obtidas com a CV1 resultante da comparação entre as asas dos machos dos gêneros *Microcerella* e *Oxysarcodexia*, com escala de visualização 10. **A** - Reconstrução gráfica das asas de machos de *Microcerella*. As linhas mais escuras demonstram a configuração de asa de *Microcerella* e as linhas mais claras a configuração consenso. Em comparação a esta configuração, *Microcerella* possui um formato de asa mais arredondado e levemente mais largo. **B** - Reconstrução gráfica das asas de machos de *Oxysarcodexia*. As linhas mais escuras demonstram a configuração de asa de *Oxysarcodexia* e as linhas mais claras a configuração consenso. Em comparação a esta configuração, *Oxysarcodexia* possui um formato de asa mais afilado e levemente mais estreito

..... 24

**Figura 10:** Dendograma de similaridade morfológica de *M. halli*, *O. culmiforceps*, *O. paulistanensis*, *O. riograndensis* e *O. thornax* com valores das distâncias de Mahalanobis obtidas na análise discriminante .....

26

**Figura 11:** Representação gráfica da análise de discriminantes canônicas para cinco espécies de dois gêneros diferentes. As elipses indicam intervalo de 95% de confiança. Os pontos verdes designam a espécie *M. halli*, os vermelhos *O. culmiforceps*, os pretos *O. paulistanensis*, os azuis *O. riograndensis* e os rosas *O. thornax*. Nota-se uma sobreposição pronunciada entre as espécies de *Oxysarcodexia*, enquanto que *M. halli* encontra-se bem distante no espaço ortogonal, o que evidencia grande separação dos gêneros .....

26

**Figura 12:** Gráficos de variação de tamanhos de centróide das espécies *O. culmiforceps*, *O. paulistanensis*, *O. riograndensis* e *O. thornax*. Nota-se que os tamanhos de centróide de *O. culmiforceps* e *O. paulistanensis* são bem próximos e apresentam valores altos, *O. thornax* apresenta valores medianos, enquanto que *O. riograndensis* apresenta o menor tamanho de centróide entre as espécies estudadas .....

29

**Figura 13:** Diagrama de dispersão em relação à CV1 e CV2 das resultante da comparação entre as asas dos machos das espécies *O. culmiforceps*, *O. paulistanensis*, *O. riograndensis* e *O. thornax*. *Oxysarcodexia culmiforceps* está representado pelos pontos vermelhos, *O. paulistanensis* pelos pontos pretos, *O. riograndensis* pelos pontos azuis e *O. thornax* pelos

pontos laranja. Notar que há a diferenciação de três grupos: *O. culmiforceps*, *O. riograndensis* e *O. paulistanensis* + *O. thornax* ..... 30

**Figura 14:** Diagrama de dispersão em relação à CV2 e CV3 das resultante da comparação entre as asas dos machos das espécies *O. culmiforceps*, *O. paulistanensis*, *O. riograndensis* e *O. thornax*. *Oxysarcodexia culmiforceps* está representado pelos pontos vermelhos, *O. paulistanensis* pelos pontos pretos, *O. riograndensis* pelos pontos azuis e *O. thornax* pelos pontos laranja. Notar que há a diferenciação de três grupos: *O. paulistanensis*, *O. thornax* e *O. culmiforceps* + *O. riograndensis* ..... 31

**Figura 15:** Diagrama de deformação derivado do CV1 resultante da comparação entre as asas dos machos das espécies *O. culmiforceps*, *O. paulistanensis*, *O. riograndensis* e *O. thornax*. **A** - Representação do extremo positivo, onde há maior distribuição de *O. riograndensis*. Os vetores escuros representam as direções das deformações da configuração da espécie em relação à configuração consenso e a grade clara representa as deformações nas asas de *O. riograndensis*. **B** - Representação do extremo negativo onde há maior distribuição de *O. culmiforceps*. Os vetores escuros representam as direções das deformações da configuração da espécie em relação à configuração consenso e a grade clara representa as deformações nas asas de *O. culmiforceps* ..... 33

**Figura 16:** Reconstruções gráficas das asas derivadas das deformações obtidas com a CV1 resultante da comparação entre as asas dos machos das espécies *O. culmiforceps*, *O. paulistanensis*, *O. riograndensis* e *O. thornax*, com escala de visualização 10. **A** - Reconstrução gráfica das asas de machos de *O. riograndensis*. As linhas mais escuras demonstram a configuração de asa de *O. riograndensis* e as linhas mais claras a configuração consenso. Em comparação a esta configuração, *O. riograndensis* possui um formato de asa mais robusto, com a porção apical da asa levemente mais alongada. **B** - Reconstrução gráfica das asas de machos de *O. culmiforceps*. As linhas mais escuras demonstram a configuração de asa de *O. culmiforceps* e as linhas mais claras a configuração consenso. Em comparação a esta configuração, *O. culmiforceps* possui um formato de asa mais estreito, com a porção apical da asa levemente mais curta ..... 34

**Figura 17:** Diagrama de deformação derivado do CV3 resultante da comparação entre as asas dos machos das espécies *O. culmiforceps*, *O. paulistanensis*, *O. riograndensis* e *O. thornax*. **A** - Representação do extremo negativo, onde há maior distribuição de *O. paulistanensis*. Os vetores escuros representam as direções das deformações da configuração do gênero em

relação à configuração consenso e a grade clara representa as deformações nas asas de *O. paulistanensis*. **B** - Representação do extremo positivo onde há maior distribuição de *O. thornax*. Os vetores escuros representam as direções das deformações da configuração do gênero em relação à configuração consenso e a grade clara representa as deformações nas asas de *O. thornax* ..... 35

**Figura 18:** Reconstruções gráficas das asas derivadas das deformações obtidas com a CV3 resultante da comparação entre as asas dos machos das espécies *O. culmiforceps*, *O. paulistanensis*, *O. riograndensis* e *O. thornax*, com escala de visualização 10. **A** - Reconstrução gráfica das asas de machos de *O. paulistanensis*. As linhas mais escuras demonstram a configuração de asa de *O. paulistanensis* e as linhas mais claras a configuração consenso. Em comparação a esta configuração, *O. paulistanensis* possui um formato de asa mais estreito, com a porção apical da asa levemente mais curta. **B** - Reconstrução gráfica das asas de machos de *O. thornax*. As linhas mais escuras demonstram a configuração de asa de *O. thornax* e as linhas mais claras a configuração consenso. Em comparação a esta configuração, *O. thornax* possui um formato de asa mais robusto, com a porção apical da asa levemente mais alongada ..... 36

**Figura 19:** Gráfico de validação cruzada entre as espécies *O. paulistanensis* e *O. thornax*, salientando-se a área de sobreposição dos grupos. *Oxysarcodexia paulistanensis* está representada pelas barras mais claras, *O. thornax* pelas barras mais escuras e a área de sobreposição está representada pelas barras de coloração intermediária..... 37

**Figura 20:** Gráficos de variação de tamanhos de centróide de machos e fêmeas de *M. halli*. Nota-se que os tamanhos de centróide dos machos possui valores superiores aos das fêmeas ..... 39

**Figura 21:** Histograma de distribuição dos indivíduos ao longo da CV1 resultante da comparação entre as asas dos machos e fêmeas de *M. halli*. As fêmeas estão representadas pelas barras mais escuras e os machos pelas mais claras. Notar que há grande diferenciação entre os sexos e nenhuma sobreposição entre eles ..... 40

**Figura 22:** Diagrama de deformação derivado do CV1 resultante da comparação entre as asas dos machos e das fêmeas da espécie *M. halli*. **A** - Representação do extremo positivo, onde há maior distribuição dos indivíduos desse sexo. Os vetores escuros representam as direções das deformações da configuração do gênero em relação à configuração consenso e a grade clara representa as deformações nas asas das fêmeas de *M. halli*. **B** - Representação do extremo

negativo onde há maior distribuição dos indivíduos desse sexo. Os vetores escuros representam as direções das deformações da configuração do gênero em relação à configuração consenso e a grade clara representa as deformações nas asas dos machos de *M. halli* ..... 42

**Figura 23:** Reconstruções gráficas das asas derivadas das deformações obtidas com a CV1 resultante da comparação entre as asas dos machos e das fêmeas da espécie *M. halli*, com escala de visualização 20. **A** - Reconstrução gráfica das asas de fêmeas de *M. halli*. As linhas mais escuras demonstram a configuração de asa das fêmeas e as linhas mais claras, a configuração consenso. Em comparação a esta configuração, as fêmeas de *M. halli* possuem um formato de asa mais estreito e pontiagudo. **B** - Reconstrução gráfica das asas de machos de *M. halli*. As linhas mais escuras demonstram a configuração de asa dos machos e as linhas mais claras a configuração consenso. Em comparação a esta configuração, os machos de *M. halli* possuem um formato de asa mais alargado e quadrado ..... 43

**Figura 24:** Diagrama de dispersão em relação à CV1 e CV2 das resultantes da comparação entre as asas dos machos das espécies *O. culmiforceps*, *O. paulistanensis*, *O. riograndensis* e *O. thornax*, e os machos e fêmeas da espécie *M. halli*. Os machos de *O. culmiforceps* estão representados pelos pontos vermelhos, os de *O. paulistanensis* pelos pontos azul claros, os de *O. riograndensis* pelos pontos azul escuros e os de *O. thornax* pelos pontos rosa. As fêmeas de *M. halli* estão representadas pelos pontos amarelos e os machos pelos pontos verdes. Notar que há a diferenciação de dois grupos: *O. culmiforceps* + *O. riograndensis* + *O. paulistanensis* + *O. thornax* (representando o gênero *Oxysarcodexia*) e machos + fêmeas de *M. halli* (representando o gênero *Microcerella*) ..... 45

**Figura 25:** Diagramas de deformações derivados do CV1 resultante da comparação entre as asas dos machos de *Oxysarcodexia* (*O. culmiforceps*, *O. paulistanensis*, *O. riograndensis* e *O. thornax*) e dos machos e fêmeas de *M. halli*. **A** - Representação do extremo positivo, onde há maior distribuição dos indivíduos machos do grupo de espécies representando o gênero *Oxysarcodexia* (*O. culmiforceps*, *O. paulistanensis*, *O. riograndensis* e *O. thornax*). Os vetores escuros representam as direções das deformações da configuração dos indivíduos machos das espécies de *Oxysarcodexia* em relação à configuração consenso e a grade clara representa as deformações da configuração dos machos das espécies de *Oxysarcodexia*. **B** - Representação do extremo negativo, onde há maior distribuição dos indivíduos de machos e fêmeas de *M. halli*. Os vetores escuros representam as direções das deformações da configuração dos

indivíduos de *M. halli* em relação à configuração consenso e a grade clara representa as deformações da configuração dos indivíduos de *M. halli* ..... 46

**Figura 26:** Reconstruções gráficas das asas derivadas das deformações obtidas com a CV1 resultante da comparação entre as asas dos machos de *Oxysarcodexia* (*O. culmiforceps*, *O. paulistanensis*, *O. riograndensis* e *O. thornax*) e dos machos e fêmeas de *M. halli*, com escala de visualização 10. **A** - Reconstrução gráfica das asas de machos dos indivíduos do grupo de espécies representando o gênero *Oxysarcodexia* (*O. culmiforceps*, *O. paulistanensis*, *O. riograndensis* e *O. thornax*). As linhas mais escuras demonstram a configuração de asa dos indivíduos machos das espécies de *Oxysarcodexia* e as linhas mais claras, a configuração consenso. Em comparação a esta configuração, os machos pertencentes ao grupo de *Oxysarcodexia* possuem um formato de asa mais largo e arredondado. **B** - Reconstrução gráfica das asas de machos e fêmeas de *M. halli*. As linhas mais escuras demonstram a configuração de asa dos machos e as linhas mais claras a configuração consenso. Em comparação a esta configuração, os machos de *M. halli* possuem um formato de asa mais alargado e quadrado ..... 47

## ÍNDICE

1.	INTRODUÇÃO .....	1
1.1.	Morfometria Geométrica.....	1
1.2.	Morfometria geométrica e a aplicação no estudo morfológico de asas de Diptera .....	3
1.3.	Sarcophagidae e a problemática na identificação .....	3
1.4.	A Entomologia forense.....	4
2.	OBJETIVOS.....	7
2.1.	Objetivo Geral .....	7
2.2.	Objetivos Específicos .....	7
3.	MATERIAL E MÉTODOS .....	8
3.1.	Área de Estudo.....	8
3.2.	Experimento.....	8
3.3.	Coleta e análise do material .....	9
3.4.	Preparo do material para a aquisição de dados .....	10
3.5.	Escolha e inserção dos marcos anatômicos.....	11
3.6.	Método de Superposição dos Quadrados Mínimos de Procrustes .....	14
3.7.	Funções de Flexões de Placas Finas .....	14
3.8.	Análise de Variância Multivariada (MANOVA).....	15
3.9.	ANOVA de Procrustes .....	16
3.10.	Tamanho do Centróide .....	17
3.11.	Análise de Variáveis Canônicas (CVA).....	17
3.12.	Análise Discriminante .....	18



4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	19
4.1.	Análise entre os gêneros <i>Oxysarcodexia</i> e <i>Microcerella</i> .....	19
4.1.1	As variações são globais ou localizadas? .....	19
4.1.2	Os gêneros diferem no formato e tamanho das asas? .....	19
4.1.3	Qual a variação de conformação da asa em cada grupo? .....	21
4.1.4	A separação dos grupos é bem definida? E quão diferentes eles são? .....	24
4.2	Análise entre espécies de <i>Oxysarcodexia culmiforceps</i> , <i>O. paulistanensis</i> , <i>O. riograndensis</i> e <i>O. thornax</i> .....	27
4.2.1	As variações são globais ou localizadas? .....	27
4.2.2	As espécies diferem no formato e tamanho das asas? .....	27
4.2.3	Qual a variação de conformação da asa em cada grupo? .....	29
4.2.4	A separação dos grupos é bem definida? E quão diferentes eles são? .....	36
4.3	Análise de dimorfismo sexual entre machos e fêmeas de <i>Microcerella halli</i> .....	38
4.3.1	As variações são globais ou localizadas? .....	38
4.3.2	O formato e tamanho das asas diferem de acordo com o sexo? .....	38
4.3.3	Qual a variação de conformação da asa em cada grupo? .....	40
4.4	Análise de dimorfismo sexual entre machos de <i>Oxysarcodexia</i> e machos e fêmeas de <i>Microcerella</i> .....	43
4.4.1	Qual a variação de conformação da asa em cada grupo? .....	43
4.5	Comentários sobre os dados obtidos .....	48
5.	CONCLUSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	51
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	52

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1. Morfometria Geométrica

A morfometria pode ser conceituada como o estudo estatístico das mudanças e variações na forma e do tamanho (Monteiro & Reis, 1999) ou também como a análise e mensuração de um componente complexo multidimensional chamado forma (Moraes, 2003).

A morfometria implica o estudo quantitativo da forma. Esta por sua vez, é definida pela configuração de marcos anatômicos (que serão explicados a seguir), podendo ser resumida em tamanho e conformação. A conformação representa as propriedades geométricas de uma configuração de pontos que são invariáveis para mudanças de escala, rotação e translação (Slice *et al.*, 2003), e o tamanho aborda as propriedades em relação às grandezas e dimensões. As mensurações extraídas das estruturas em que se busca estudar a forma contém informações combinadas de tamanho e conformação (Richtsmeier *et al.*, 2002).

A morfometria é subdividida em morfometria tradicional e morfometria geométrica. A primeira abrange o estudo da variação e covariação de medidas de distância lineares entre pontos anatomicamente homólogos, que normalmente são distâncias ou ângulos das estruturas (Rohlf & Marcus, 1993).

A morfometria tradicional apresenta alguns problemas mesmo descrevendo a covariação de medidas. As análises que utilizam essa técnica não capturam muita informação sobre a forma do organismo, pois os marcos usados não fornecem a noção de posição geométrica, apenas de distâncias lineares. Também não levam em consideração o padrão de localização dos pontos no espaço e não tornam possível reconstruir a forma das espécies estudadas, após as diferentes análises multivariadas. Ou seja, não é possível obter uma representação gráfica da localização das diferenças que são deduzidas das análises das matrizes geradas por métodos multivariados.

A morfometria geométrica tem como objetivo descrever e representar a geometria das formas estudadas, descrevendo e localizando claramente as regiões onde ocorrem as mudanças e, reconstruindo e reconstituindo graficamente tais mudanças na forma (Fornel, 2005). Essas descrições baseiam-se em pontos de referência, denominados marcos anatômicos ou *landmarks*. Esses marcos caracterizam-se como pontos de correspondência presentes em cada objeto, que coincidem entre e dentro das populações estudadas (Dryden & Mardia, 1998). Assim, são pontos morfológicos supostamente homólogos e que se repetem nos

objetos de estudo. Neste caso, a homologia é considerada um mapeamento de pontos, onde o importante é a correspondência relacionando pontos a pontos, e não partes a partes, sendo que um ponto é uma estrutura mais facilmente definida que uma parte estrutural (Bookstein, 1991). As coordenadas desses pontos de referência em estruturas homólogas, sejam de duas ou três dimensões, são as variáveis que capturam as informações sobre a geometria das estruturas estudadas. A vantagem da utilização de coordenadas é a inclusão das informações acerca de suas posições relativas, e assim possibilitam a reconstrução da forma após a realização das análises uni ou multivariadas (Fornel, 2005).

A morfometria geométrica representa uma área de conhecimento extremamente nova, cuja utilização e importância começaram a ser percebidas apenas nos últimos anos. Hoje já representa uma ferramenta importante em análises taxonômicas e sistemáticas, apresentando inúmeras vantagens em comparação à morfometria tradicional. Os avanços recentes permitem melhor aproximação para medidas de variação de forma entre organismos e a relação dessas variações com o ambiente como um todo, promovendo inúmeras relações com diversos ramos da ciência. No campo da taxonomia, a morfometria geométrica é utilizada para determinar as medidas das diferenças entre as espécies de modo a elaborar diferentes referenciais para comparações (Peres-Neto, 1995).

As principais vantagens da utilização da técnica da morfometria geométrica com o intuito de realizar a diferenciação de espécies, é a velocidade da coleta de material de teste (várias imagens de asas podem ser digitalizadas e analisadas em um mesmo dia), o baixo custo do processo (pois somente necessita de material para digitalização de imagens) e o material que pode ser facilmente obtido tanto de exemplares secos quando frescos (Lyra *et al.*, 2010). A única desvantagem da utilização da técnica segundo Lyra *et al.* (2010), é que as asas apenas devem não estar danificadas, o que, comparado a tantas outras técnicas disponíveis não representa uma desvantagem tão clara. Análises moleculares, técnicas mais utilizadas atualmente juntamente à taxonomia para discriminação de espécies, necessita da utilização de equipamentos e reativos custosos para a realização da análise, além de haver a necessidade de tempo e experiência para a interpretação dos resultados (Calle *et al.*, 2008). Por essas razões, a morfometria geométrica se apresenta como um tipo de técnica que permite, com menor custo e tempo, diferenciar espécies com um alto grau de confiança (Calle *et al.*, 2008) atuando como uma alternativa de análise muito eficiente.

## **1.2. Morfometria geométrica e a aplicação no estudo morfológico de asas de Diptera**

As asas dos insetos são estruturas muito adequadas para a realização de estudos morfométricos. A primazia para a utilização dessas estruturas refere-se às suas características, tal como sua forma predominantemente bidimensional e o grande número de marcos anatômicos do tipo 1 (marcos que se caracterizam por serem inseridos em estruturas caracterizadas como justaposição de tecidos) possíveis de serem inseridos nas nervuras alares (Bookstein, 1991; Monteiro & Reis, 1999; Moratore, 2009).

A efetividade da utilização da morfometria geométrica como ferramenta para a discriminação de espécies de Diptera pode ser vista na literatura, onde há diversos exemplos da utilização da técnica aplicada à venação alar como ferramenta para a resolução de problemas taxonômicos, sistemáticos e descrições de variações morfológicas (Baylac & Daufresne, 1996; De la Riva *et al.*, 2001; Dujardin *et al.*, 2003; Jirakanjanakit & Dujardin, 2005; Camara *et al.*, 2006; Dvorak *et al.*, 2006; Calle *et al.*, 2008; Ludosky *et al.*, 2008; Aytakin *et al.*, 2009; Francuski *et al.*, 2009; Ljubinka *et al.*, 2009; Kitthawee & Dujardin, 2009; Lyra *et al.*, 2010; Muñoz-Muñoz *et al.*, 2011). Esses trabalhos oferecem informações para a implementação da técnica, como por exemplo, a forma de obtenção dos dados e quais marcos e análises são possíveis de serem utilizados. O emprego desse tipo de técnica pode servir como instrumento para a diferenciação de espécies da família Sarcophagidae, distinção caracterizada de certo modo como controversa, devido às dificuldades taxonômicas encontradas para o grupo, assunto tratado a seguir.

## **1.3. Sarcophagidae e a problemática da identificação**

As espécies de Sarcophagidae apresentam uma grande dificuldade para sua identificação. A morfologia externa dos adultos dessas moscas é bastante uniforme, sendo a distinção de espécies e gêneros atualmente baseada principalmente na morfologia da terminália masculina, sendo impossível a identificação baseada unicamente no estudo das fêmeas (De Arriba & Costamagna, 2006; Mello-Patiu & Souza-Neto, 2007). De acordo com Amorim (2009), a diferenciação dos Sarcophagidae até o nível de espécie pode ser complicada, devido ao grande número de espécies existente, à uniformidade da morfologia externa (“falta de diferenças morfológicas observáveis”), usual indisponibilidade de chaves taxonômicas (e que quando disponíveis, acabam por conter descrições de caracteres morfológicos um tanto deficientes). A grande diversidade morfológica das estruturas da genitália acaba por dificultar a evidênciação de homologias, e, por consequência, também a delimitação de grupos

monofiléticos (Lopes, 1982; Pape, 1996), o que torna muito complicada a resolução acerca da origem, composição e relações entre gêneros e espécies desses organismos.

Os Sarcophagidae são designados comumente como “*flesh flies*”, que indica que são moscas devoradoras de carne, o que contrasta com sua biologia, pois apenas uma parcela muito pequena do total de espécies existentes frequenta carcaças e tecidos (Merritt *et al.*, 2009). Possuem uma distribuição cosmopolita (Smith, 1986), mas o maior número de espécies pode ser encontrado nas regiões continentais que apresentam clima quente (Pape, 1996), sendo que pouquíssimas espécies ocorrem nas latitudes mais ao norte (McAlpine, 1987). No total são registradas cerca de 3.073 espécies e a região Neotropical se apresenta como a mais rica em número de espécies, podendo ser encontradas em torno de 800 (McAlpine, 1987; Pape, 1996; Thompson, 2008).

Os adultos de Sarcophagidae são considerados indivíduos grandes medindo de 2,5 a 18 mm. Normalmente apresentam tórax listrado com coloração cinza-prateada, o abdome pode apresentar listras, pontuações, manchas ou padrão xadrez e, usualmente, possuem cerdas fortes e olhos avermelhados (McAlpine, 1981; Smith, 1986). Apresentam hábito sinantrópico (De Arriba & Costamagna, 2006).

#### **1.4. A Entomologia forense e os Sarcophagidae**

A Entomologia Forense é o ramo da ciência forense que emprega informações acerca de insetos e outros artrópodes na investigação de casos jurídicos relativos a seres humanos e outros animais (Gennard, 2007). De acordo com as atuais classificações, há três principais implicações da Entomologia Forense, que incluem sua utilização envolvendo estruturas artificiais e outros aspectos do ambiente urbano, a utilização como ferramenta em processos envolvendo mercadorias armazenadas e, por fim, o emprego na área criminal, mais especificamente em relação a casos envolvendo morte violenta (Lord & Stevenson, 1986). Esta última forma de aplicação (médico-legal) é a que será tratada a seguir.

Uma diversidade muito grande de artrópodes pode ser encontrada frequentando o ambiente cadavérico. Isso ocorre porque o cadáver, tal como tantos outros substratos, é um recurso trófico que induz uma sucessão de colonizadores com diferentes composições faunísticas. O reconhecimento dessa sucessão é muito importante para as análises forenses, tal como a estimativa de IPM (intervalo pós-morte, na qual é possível estabelecer o tempo mínimo e máximo entre a morte e o encontro do corpo), a averiguação do local de morte, modo da morte, análises entomotoxicológicas, entre outros fatores.

A fauna associada a esse tipo de substrato compreende uma grande diversidade de grupos que representam diferentes papéis em uma dinâmica ecológica, passível de ser observada. Além dos necrófagos, responsáveis por realizar efetivamente a decomposição se alimentando dos tecidos mortos, podemos encontrar frequentando o ambiente cadavérico, espécies parasitas e predadoras, omnívoras e acidentais (Keh, 1985; Smith, 1986; Oliveira-costa, 2007), que são atraídas para esse ambiente.

Dentre os animais responsáveis por realizar a decomposição dos tecidos podemos enfatizar Diptera (moscas) e Coleoptera (besouros) como as ordens de insetos que possuem maior relevância, devido à sua atividade e frequência em restos humanos (Campobasso *et al.*, 2001). Cerca de 10 famílias já foram identificadas pertencendo a esses dois grupos (Campobasso *et al.*, 2001) e estima-se que representem 60% da fauna necrófaga associada (Moretti *et al.*, 2008).

Diptera constitui, ao lado dos Coleoptera, Hymenoptera e Lepidoptera, uma das quatro ordens megadiversas que compõem a classe Insecta. Pode ser encontrada em todas as regiões biogeográficas do planeta (Carvalho & Mello-Patiu, 2008), distribuída desde os limites norte das terras do sul do Ártico até as ilhas próximas a costa da Antártida. Atualmente são conhecidas mais de 150.000 espécies no mundo, divididas em 161 famílias (Thompson, 2008), sendo que na região Neotropical são catalogadas cerca de 24.075 espécies, reunidas em 3.433 gêneros (Amorim *et al.*, 2002).

No âmbito da Entomologia Forense os dípteros possuem uma importância enorme, sendo considerados praticamente essenciais para a realização das análises forenses. Por causa da grande associação desses seres, que representam grande papel na saúde humana e animal e também na ecologia da decomposição, a entomologia forense é reconhecida como uma especialidade dentro do campo da entomologia médica (Byrd & Castner, 2010). Os dípteros representam o táxon mais abundante e diverso (Szymank *et al.*, 2002) encontrado em ambientes cadavéricos e são os primeiros a localizarem as carcaças, devido a sua grande capacidade de captação de odores. As moscas possuem grande aptidão na percepção de compostos químicos produzidos pelos cadáveres, tais como amônia, carbonato de amônia e compostos ricos em enxofre (Sukontason *et al.*, 2004).

Esses organismos associados aos cadáveres frequentam esse tipo de substrato com o intuito de utilizá-lo como recurso alimentar, local para encontro com o sexo oposto, sítio de oviposição ou larviposição e como local para um posterior desenvolvimento das larvas

(Luederwaldt, 1911). Os adultos são encontrados apenas em torno de substâncias em decomposição, enquanto que as larvas ficam envolvidas diretamente no processo de putrefação, pois são elas que ingerem o substrato e o fragmentam de modo a extrair energia tanto do material em decomposição quanto da microflora associada (Mason, 1999 *apud* Ssymank *et al.*, 2002).

Dentre os Diptera, Calliphoridae, Sarcophagidae e Muscidae são as principais famílias que compõe a fauna cadavérica (Carvalho & Mello-Patiu, 2008).

Sarcofagídeos possuem uma importância muito significativa para a Entomologia Forense. Junto com os Calliphoridae são considerados os primeiros colonizadores a visitarem carcaças. Ao contrário de espécies de outras famílias de moscas que frequentam esse tipo de substrato, os sarcofagídeos parecem voar independentemente do clima, inclusive em tempos chuvosos (Erzinçlioglu, 2000), o que pode significar que em climas com longos períodos de chuvas podem ser considerados os colonizadores iniciais (Gennard, 2007). As espécies de Sarcophagidae estão associadas a carcaças em todas as fases de decomposição (Smith, 1986; Byrd & Castner, 2001), e não apenas nos estágios mais avançados de decomposição (Oliveira-Costa, 2008).

Insetos que ovipositam nos cadáveres nas fases iniciais de putrefação acabam tendo uma clara vantagem sobre outros que chegam a fases mais tardias, pois há maior disponibilidade de alimento. As fêmeas de Sarcophagidae são estritamente vivíparas, raramente ovovivíparas (McAlpine, 1981) e, quando frequentadoras de carcaças, depositam larvas de primeiro ínstar ou ovos que eclodem imediatamente após a deposição no material em decomposição (Kettle, 1984). Esse tipo de deposição apresenta uma vantagem considerável no que se refere à competição pelo substrato disponível com os Calliphoridae, que são predominantemente ovíparos (Kettle, 1984).

Sarcophaginae é a única subfamília de Sarcophagidae que possui espécies de interesse forense. A maioria das espécies apresenta hábitos saprófagos, se alimentando de tecidos mortos de invertebrados e vertebrados, possuindo grande importância dentro das ciências forenses (Catts & Goff, 1992).

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo Geral**

Determinar qual o grau de discriminação interespecífica é possível de se obter em espécies de Sarcophagidae com interesse para a Entomologia Forense utilizando a análise morfométrica.

### **2.2. Objetivos Específicos**

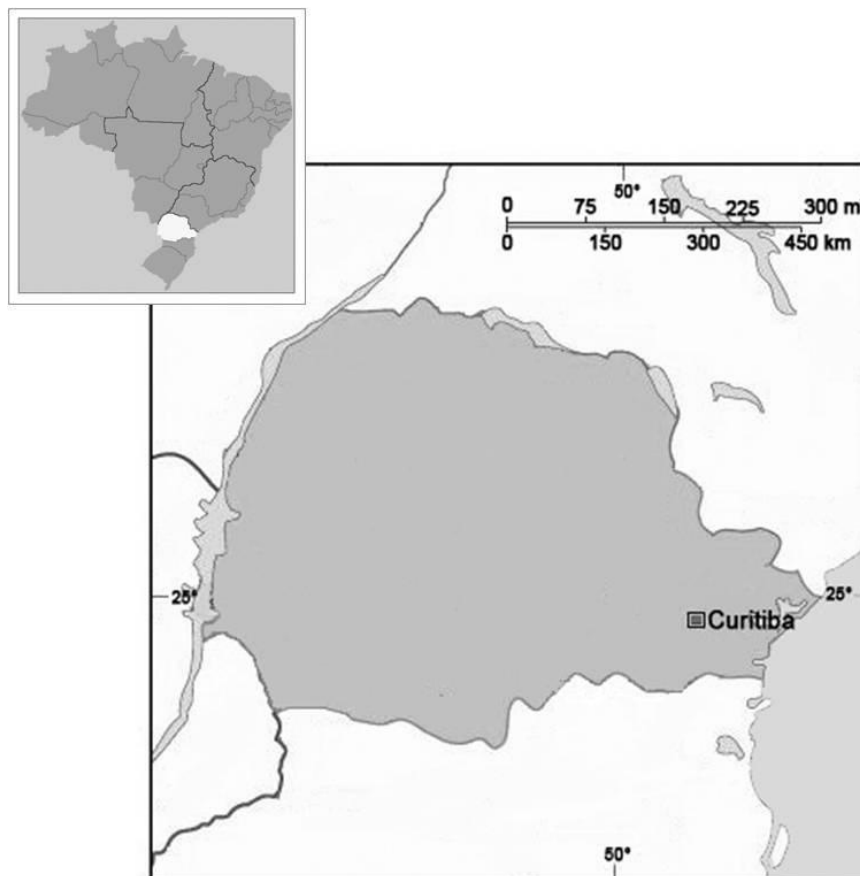
- Avaliar o grau de diferenciação interespecífica em espécies simpátricas do gênero *Oxysarcodexia* Townsend, 1917 [*O. culmiforceps* (Dodge, 1966), *O. paulistanensis* (Mattos, 1919), *O. riograndensis* (Lopes, 1946) e *O. thornax* (Walker, 1849)].
- Realizar comparação morfométrica entre espécies dos gêneros *Oxysarcodexia* Townsend, 1917 e *Microcerella* Macquart, 1851.
- Determinar o grau de dimorfismo sexual da espécie *Microcerella halli* (Engel, 1931) com base na análise morfométrica.
- Determinar o grau de dimorfismo sexual entre machos de *Oxysarcodexia* Townsend, 1917 e machos e fêmeas de *Microcerella* Macquardt, 1851.



### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Área de Estudo

O experimento foi realizado no município de Curitiba (25°25'S e 49°14'W) Paraná (Figura 1), dentro do Campus do Centro Politécnico da Universidade Federal do Paraná.



**Figura 1.** Mapa do estado do Paraná indicando o município de Curitiba. No detalhe, em branco a localização do Paraná dentro do território brasileiro.

O local escolhido para realização das coletas situa-se, de acordo com a classificação fitogeográfica, em uma área remanescente de Floresta Ombrófila Mista ou Floresta de Araucária (Velloso & Góes, 1982).

#### 3.2. Experimento

Para obtenção do material de estudo foi realizado um experimentos utilizando substrato suíno que ocorreu entre os dias 21.VII.09 a 16.X.09. Para tanto, uma fêmea de *Sus scrofa* (Linnaeus, 1758) contendo cerca de 25 quilogramas foi sacrificada e colocada dentro de uma gaiola confeccionada com painéis de tela de arame com malha de cerca de dois centímetros e

meio, medindo em torno de dois metros de altura apresentando abertura lateral. Dentro da gaiola e recobrendo o substrato, foi instalada uma armadilha do tipo Shannon modificada confeccionada em tecido de fibra sintética voal (Figura 2).

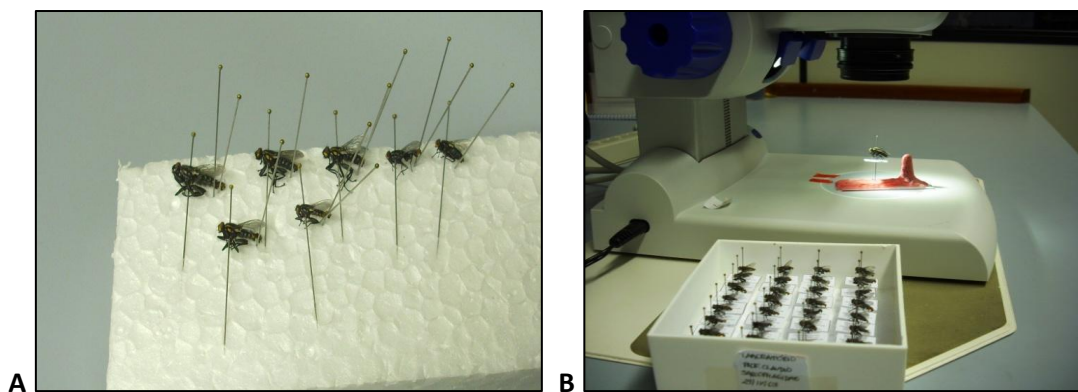


**Figura 2.** Armadilha Shannon modificada sobre o substrato suíno, instalada dentro do Centro Politécnico da UFPR em Curitiba. Fonte: Beatriz E. da Silveira (2009).

### **3.3. Coleta e análise do material**

As coletas dos dípteros foram realizadas no período da manhã, de modo ativo, por meio de frascos coletores confeccionados com potes de vidro medindo cerca 15 centímetros de altura e oito centímetros de diâmetro, contendo acetato de etila ( $\text{CH}_3\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ ). Esses vidros foram confeccionados seguindo as recomendações de Almeida *et al.* (2003). Durante a coleta, os exemplares dos dípteros eram imediatamente sacrificados ao entrarem em contato com o líquido tóxico.

O material coletado foi transportado para o laboratório e foi realizada a triagem dos dípteros com base em caracteres de asa, tamanho, coloração e quetotaxia. Os Sarcophagidae machos tiveram sua genitália exposta utilizando estiletes entomológicos (Figura 3A) e foram montados e etiquetados (Figura 3B) sob microscópio óptico Zeiss Standard 20. Após, foram analisados sob microscópio óptico para a identificação das espécies (Figura 3B), com utilização da chave de identificação proposta por Carvalho & Mello-Patiu (2008).



**Figura 3.** **A** - Método de distensão da genitália masculina dos indivíduos coletados. **B** - Processo de identificação taxonômica dos exemplares montados e etiquetados. Fonte: Beatriz E. da Silveira (2010).

Os indivíduos machos coletados para a utilização na análise pertenciam às espécies: *Microcerella halli* (Engel, 1931), *Oxysarcodexia culmiforceps* (Dodge, 1966), *Oxysarcodexia paulistanensis* (Mattos, 1919), *Oxysarcodexia riograndensis* (Lopes, 1946) e *Oxysarcodexia thornax* (Walker, 1849). A escolha das espécies deveu-se à presença destas em trabalhos anteriormente realizados em Curitiba, Paraná, destacando sua importância em estudos de entomologia forense e em experimentos utilizando substratos em decomposição (Ferreira, 1979; Moura et al., 1997; Moura et al., 2005; Vairo, 2008).

Como não foi possível a identificação das fêmeas obtidas no experimento, por meio das chaves taxonômicas disponíveis, os exemplares de Sarcophagidae pertencentes ao sexo feminino não puderam ser utilizados. A obtenção das fêmeas empregadas na análise foi realizada analisando um material seco previamente montado no ano de 1996 por Maurício O. Moura, proveniente de uma criação de *Microcerella halli* realizada nesse mesmo ano. Foram examinados 19 exemplares, seis machos e 13 fêmeas. Após a confirmação da espécie pelos caracteres da genitália masculina, as fêmeas puderam ser utilizadas para as análises.

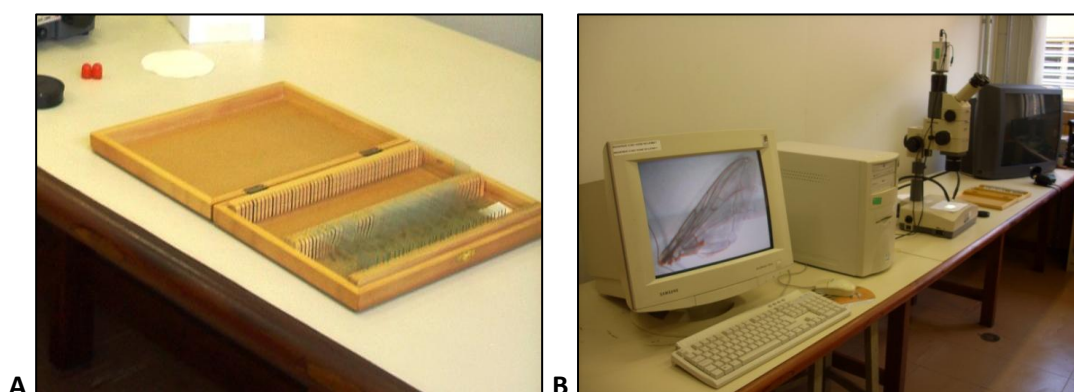
### **3.4. Preparo do material para a aquisição de dados**

No total foram empregados na análise 262 indivíduos (Tabela 1), incluindo machos e fêmeas. Uma das 13 fêmeas disponíveis apresentava a asa direita danificada, tendo sido excluída da análise.

**Tabela 1.** Número e sexo dos indivíduos de cada espécie utilizados para as análises morfométricas.

Espécies utilizadas	Número de machos	Número de fêmeas
<i>Microcerella halli</i> (Engel, 1931)	50	12
<i>Oxysarcodexia culmiforceps</i> (Dodge, 1966)	50	0
<i>Oxysarcodexia paulistanensis</i> (Mattos, 1919)	50	0
<i>Oxysarcodexia riograndensis</i> (Lopes, 1946)	50	0
<i>Oxysarcodexia thornax</i> (Walker, 1849)	50	0

Após a identificação dos espécimes, as asas direitas foram destacadas do corpo dos exemplares com a utilização de pinças entomológicas e montadas em lâminas semi-permanentes com glicerina (Figura 4A). Com a utilização de microscópio estereoscópico com câmera fotográfica acoplada, foram confeccionadas fotos das asas dos espécimes, sendo as imagens capturadas em um aumento de cerca de 15 vezes. Essas imagens foram digitalizadas e armazenadas no computador (Figura 4B).



**Figura 4.** **A** - Caixa contendo as lâminas semi-permanentes elaboradas com as asas destacadas. **B** - Captura e digitalização das imagens obtidas a partir das lâminas. Fonte: Beatriz E. da Silveira (2010).

### 3.5. Escolha e inserção dos marcos anatômicos

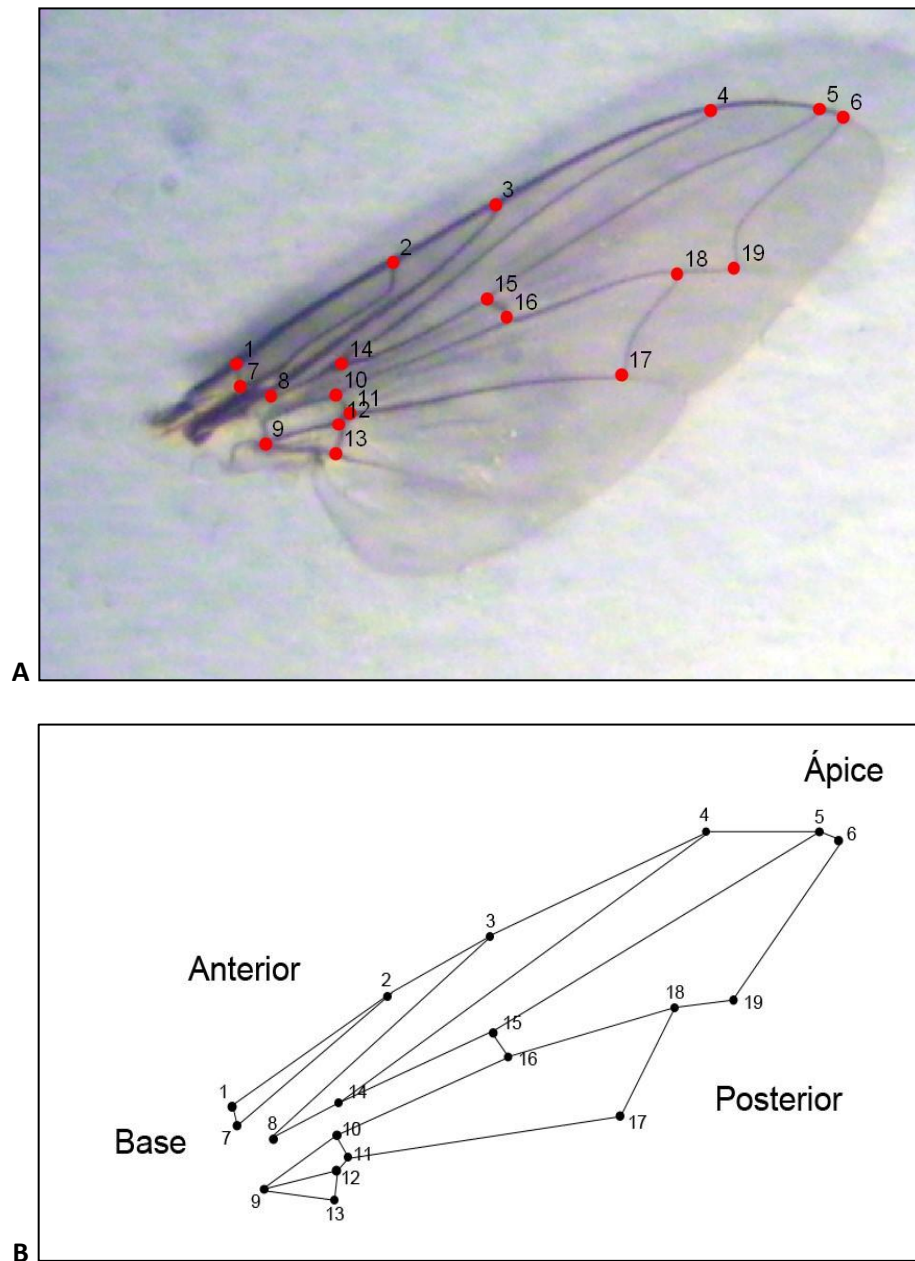
Foram escolhidos 19 marcos anatômicos das asas dos espécimes (Tabela 2), caracterizados por conexões e intersecções que fornecem informações acerca da conformação das asas. Esses marcos foram escolhidos com base em trabalhos anteriores realizados com morfometria geométrica de asas de Diptera (Camara *et al.*, 2006; Ludosky *et al.*, 2008; Frankuski *et al.*, 2009; Lyra *et al.*, 2010).

**Tabela 2.** Descrição dos marcos anatômicos das asas dos espécimes pertencentes às cinco espécies de Sarcophagidae.

Descrição dos marcos	
<b>Marco 1</b>	Intersecção entre as veias C e h
<b>Marco 2</b>	Intersecção entre as veias C e Sc
<b>Marco 3</b>	Intersecção entre as veias C e R <sub>1</sub>
<b>Marco 4</b>	Intersecção entre as veias C e R <sub>2+3</sub>
<b>Marco 5</b>	Intersecção entre as veias C e R <sub>4+5</sub>
<b>Marco 6</b>	Intersecção entre as veias C e M
<b>Marco 7</b>	Intersecção entre as veias Sc e h
<b>Marco 8</b>	Bifurcação da veia R
<b>Marco 9</b>	Intersecção entre as veias A <sub>1</sub> e CuA
<b>Marco 10</b>	Intersecção entre as veias M e bm-cu
<b>Marco 11</b>	Intersecção entre as veias CuA <sub>1</sub> e bm-cu
<b>Marco 12</b>	Intersecção entre as veias CuA <sub>1</sub> e CuA <sub>2</sub>
<b>Marco 13</b>	Intersecção entre as veias A <sub>1</sub> e CuA <sub>2</sub>
<b>Marco 14</b>	Intersecção entre as veias R <sub>2+3</sub> e R <sub>4+5</sub>
<b>Marco 15</b>	Intersecção entre as veias R <sub>4+5</sub> e r-m
<b>Marco 16</b>	Intersecção entre as veias M e r-m
<b>Marco 17</b>	Intersecção entre as veias CuA <sub>1</sub> e dm-cu
<b>Marco 18</b>	Intersecção entre as veias M e dm-cu
<b>Marco 19</b>	Ponto de bifurcação da veia M

Os marcos anatômicos de cada asa foram obtidos com a utilização do software TPS Dig 2.16 (Rohlf, 2010). A ordem de introdução dos marcos anatômicos foi a mesma para cada indivíduo, por ser este um requisito para estabelecer a homologia espacial das estruturas mediante suas coordenadas. Cada marco anatômico corresponde a uma coordenada em um plano cartesiano, sendo assim, cada uma das asas, após a inserção dos marcos anatômicos,

encontra-se representada por uma matriz com 19 coordenadas X e 19 coordenadas Y no plano cartesiano. É importante ressaltar, que como as inserções dos marcos anatômicos foram realizadas manualmente e, portanto, não se encontravam livre de erros de marcações, o processo de obtenção dos marcos foi realizado três vezes em cada asa pela mesma pessoa em dias distintos. Como exemplo, a figura 5 apresenta a visualização da asa direita de um espécime utilizado no presente estudo.



**Figura 5.** **A** - Vista dorsal da asa direita de *Oxysarcodexia thornax* com a posição dos 19 marcos anatômicos. **B** - Representação gráfica do consenso e eixos alares formados pelos 19 marcos anatômicos ligados por linhas para facilitar a visualização. Os pontos representam os marcos e a numeração corresponde à ordem de ingresso destes. Fonte: Beatriz E. da Silveira (2010).

### **3.6. Método de Superposição dos Quadrados Mínimos de Procrustes**

Para gerar as mudanças de forma a partir dos marcos anatômicos, as configurações individuais foram alinhadas pelo Método de Superposição dos Quadrados Mínimos de Procrustes no programa TPSRelw versão 1.49 (Rohlf, 2010).

O método de Procrustes consiste basicamente em três etapas. Na primeira as configurações das asas são superimpostas, eliminando dessa forma, o efeito da posição. Na segunda etapa o tamanho do centróide de cada configuração é proporcionalizado para 1, eliminando assim o efeito do tamanho. E, por último, as configurações superpostas e proporcionalizadas, são rotacionadas de modo que os marcos anatômicos correspondentes se ajustem pela menor distância quadrada possível, retirando dessa maneira o efeito da orientação.

O processo generalizado de Procrustes é feito em relação a uma configuração média, denominada configuração consenso.

### **3.7. Funções de Flexões de Placas Finas**

O resultado final após as configurações terem sido transladas, rotacionadas e proporcionalizadas, é uma matriz de variáveis de forma. A partir dessa matriz é possível explorar mudanças em níveis globais e localizados da configuração. Sendo assim, temos os componentes uniformes, que podem ser descritos como as diferenças na forma que expressam quanto o espécime é esticado ou contraído em uma direção, até que assuma tamanho e local comum ao da configuração consenso. A variação da forma contida nos componentes não uniformes consiste nos movimentos não lineares, localizados em regiões diferentes da estrutura (Corti *et al.*, 1996).

Em resumo, os componentes uniformes são responsáveis por exprimir as informações acerca da variação da conformação em escala global, representando as mudanças generalizadas, enquanto que os componentes não uniformes exprimem as variações localizadas. Os componentes uniformes são caracterizados por duas variáveis (U1 e U2), enquanto que os componentes não uniformes são determinados por um número de variáveis equivalentes ao número de pontos homólogos (X1, Y1, X2, Y2,...) (Dujardin, 1999).

A Função de flexão de placas finas é uma função baseada em um modelo físico de deformação de uma placa de metal de uma espessura desprezível e infinitamente grande, utilizada para avaliar mudanças em pontos de referência. Esse método é utilizado para avaliar

mudanças em pontos de referência ajustando uma função de interpolação para as coordenadas dos marcos anatômicos de cada espécime em contraposição à configuração consenso, fazendo com que todos os marcos homólogos coincidam (Amorim, 2003). A força feita para deformar a placa é uma quantificação das diferenças entre as formas, designada energia de deformação (Dujardin, 1999). A matriz de energia de deformação é decomposta em eixos ortogonais em duas outras matrizes associadas, onde cada valor da primeira matriz está associada a um vetor da segunda matriz. Essas matrizes são a de autovetores e a matriz correspondente é a de autovalores.

Os autovetores são as deformações principais (*"Principal Warps"*) e expressam os modos de variação possíveis nos espécimes, descrevendo os principais eixos de deformação possíveis na conformação do objeto de estudo. A projeção dos espécimes superpostos (as coordenadas de cada indivíduo) sobre as deformações principais produzem a outra matriz associada, de autovalores. Essa matriz de autovalores corresponde aos escores de deformações parciais (*"Partial Warps"*). Essas deformações parciais descrevem as variações das coordenadas de cada espécime em relação à configuração de referência e é uma característica de cada indivíduo. Os escores de deformações parciais são os componentes uniformes e os não uniformes.

Em resumo, as deformações principais são caracterizadas como características de referência e as deformações parciais são uma característica de cada indivíduo (Moraes, 2003). Ao conjunto desses escores, denomina-se matriz de pesos (*"Weight Matrix"* ou Matriz W).

Tanto as deformações parciais, as deformações principais e a matriz W foram obtidas através do programa TPSRelw versão 1.49 (Rolf, 2010). Esses dados foram utilizados como conjunto de variáveis utilizadas em diversas análises estatísticas multivariadas.

### **3.8. Análise de Variância Multivariada (MANOVA)**

A MANOVA é uma extensão lógica da ANOVA. Tanto a MANOVA quanto a ANOVA são métodos utilizados para comparação de médias mas, ao contrário dessa última, a MANOVA é utilizada quando mais de uma variável dependente está envolvida no processo e em resumo, ela é empregada para "analisar simultaneamente múltiplas medidas de cada indivíduo ou objeto sob investigação" (Hair *et al.*, 1998).

Foi realizada a MANOVA com o intuito de testar se as variações gerais na forma são globais ou localizadas. Por isso a análise foi feita com e sem os componentes uniformes. Se as



variações são globais espera-se que a retirada destas variáveis implique na perda de explicação do modelo. Por outro lado, se não houver diferença (efeitos localizados), não haverá desconformidade entre os modelos.

O teste Lambda de Wilks ( $\lambda$  Lambda) foi realizado para avaliar diferenças multivariadas ao longo de grupos. Esse teste verifica se os grupos são de algum modo diferentes, sem se preocupar com a possibilidade de diferirem em pelo menos uma combinação linear das variáveis dependentes (Hair *et al.*, 1998). Deste modo, quanto maior a dispersão entre grupos, menor o valor do Lambda de Wilks e assim, maior é a significância.

Para a realização da MANOVA foram realizadas análises utilizando o programa JMP versão 8.0 (SAS Institute Inc., 2008), sobre 750 marcos anatômicos derivados de dois gêneros (*Microcrella* e *Oxysarcodexia*) e de 600 marcos (provenientes das espécies *O. culmiforceps*, *O. paulistanensis*, *O. riograndensis* e *O. thornax*), para a análise interespecífica. Para as análises de dimorfismo sexual foram utilizados no total 186 indivíduos, que incluíam três repetições de cada asa (36 das fêmeas e 150 dos machos). Todas as análises foram realizadas com e sem os componentes uniformes.

### **3.9. ANOVA de Procrustes**

A ANOVA de Procrustes é um método que utiliza as coordenadas de Procrustes alinhadas como dados. Isso é possível porque o cálculo das coordenadas de Procrustes é baseada em desvios de forma a partir do consenso, o que em outras palavras refere-se à álgebra de somas de quadrados. Isso faz com que seja possível a utilização das coordenadas de Procrustes de forma análoga aos desvios de uma média de uma ANOVA convencional (Klingenberg & McIntyre, 1998).

A ANOVA de Procrustes foi utilizada para verificar possíveis diferenciações na forma e tamanho das asas entre os diversos táxons. Foi realizada no programa MorphoJ versão 1.02d (Klingenberg, 2011) para as análises entre gêneros, entre espécies de um mesmo gênero, entre sexos dentro de um mesmo gênero e entre sexos de gêneros distintos, compreendendo respectivamente análises com 750 indivíduos, 600 indivíduos, 186 e 786 indivíduos. Os classificadores extraídos dos dados foram gênero, indivíduo e repetição; espécie indivíduo e repetição e; sexo, indivíduo e repetição, respectivamente.

### **3.10. Tamanho do Centróide**

O tamanho do centróide é caracterizado como a raiz quadrada do somatório dos quadrados das distâncias entre cada ponto de referência e o centróide (Bookstein, 1991). O centróide é o ponto no interior de uma forma geométrica que define o seu centro de gravidade ou centro de massa. Em outras palavras, é o ponto cujas coordenadas são as médias das coordenadas de todas as coordenadas, ou seja, um “ponto médio”. Na carência de alometria, essa é a única medida de tamanho que não se relaciona com as variáveis de forma.

As medições de tamanho do centróide foram utilizadas para sumarizar o tamanho da asa em uma única variável e foram realizadas através do programa JMP versão 8.0 (SAS Institute Inc., 2008). Para calcular o tamanho do centróide, 750 indivíduos foram utilizados para a análise entre gêneros, 600 para a análise entre espécies de um mesmo gênero e 186 para a análise de dimorfismo sexual.

### **3.11. Análise de Variáveis Canônicas (CVA)**

A análise das variáveis canônicas fornece uma descrição das diferenças entre grupos especificados *a priori* em um conjunto de dados multivariados. A CVA permite a redução da dimensionalidade de dados, e procura, com base em um grande número de características originais correlacionadas, obter combinações lineares dessas características denominadas variáveis canônicas de tal forma que a correlação entre essas variáveis seja nula (Khattree & Naik, 2000).

Esse tipo de análise demonstra o índice de variação de cada grupo, fornecendo uma descrição das diferenças entre grupos especificados de antemão em um conjunto de dados multivariados. Normalmente esses grupos podem representar indivíduos de populações de uma única espécie ou então espécies diferentes, quando na verdade, o objetivo de se realizar essa análise é verificar a relação da grandeza de diferenças entre os grupos, relativa àquela dentro dos grupos (Monteiro & Reis, 1999).

As análises canônicas foram realizadas com o intuito de verificar a posição dos grupos no espaço multivariado decorrente das variáveis canônicas e principalmente localizar e descrever as deformações das asas. Isso foi possível utilizando o programa MorphoJ versão 1.02d (Klingenberg, 2011) utilizando 750 indivíduos para a análise entre gêneros, 600 para a análise interespecífica e 186 para a análise de dimorfismo sexual dentro de um mesmo gênero e 786 para a análise de dimorfismo sexual entre gêneros diferentes.

### 3.12. Análise Discriminante

A análise discriminante tem como objetivo classificar as observações desconhecidas e verificar quais as variáveis que possuem maior relevância para discriminar os grupos de interesse.

Para a realização da análise discriminante algumas informações já devem estar bem estabelecidas. Os grupos já devem ser conhecidos *a priori* e supõe-se também que as observações estejam corretamente classificadas.

Para verificar se os dois grupos considerados pertencem a uma única população ou a distintas populações, calcula-se a distância de Mahalanobis entre as duas médias multivariadas. A distância de Mahalanobis é uma métrica de similaridade, utilizada para medir a distância entre classes de padrões. Quanto maior a distância de Mahalanobis entre dois grupos, maior é a diferença entre eles. Deste modo testa-se a significância da função encontrada através da separação entre as duas médias multivariadas, expressa em unidades de variância combinada, levando em consideração a correlação entre os conjuntos de dados.

Esse tipo de análise é feito par a par, procurando classificar os indivíduos em cada um dos agrupamentos indicados.

Posteriormente se calcula a porcentagem de exemplares corretamente classificados (validação cruzada) para testar a 'eficiência' da análise na separação dos grupos. As análises de validação cruzada são extremamente importantes para a verificação da eficiência das equações geradas a partir das características extraídas em classificar corretamente os indivíduos dentro de seus respectivos grupos.

Assim, com o intuito de verificar a classificação dos exemplares trabalhados foram realizadas análises discriminantes par a par entre as cinco espécies de Sarcophagidae de gêneros diferentes (compreendendo 750 indivíduos), entre as quatro espécies de mesmo gênero (600 indivíduos), entre diferentes sexos de uma mesma espécie (186 indivíduos). Para todas essas análises foi utilizando o programa MorphoJ versão 1.02d (Klingenberg, 2011).

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Análise entre os gêneros *Oxysarcodexia* e *Microcerella*

#### 4.1.1 As variações são globais ou localizadas?

Com base nos resultados da análise MANOVA (Tabela 3), podemos observar que as mudanças encontradas entre *Microcerella* e *Oxysarcodexia* são mudanças localizadas e não mudanças globais nas asas. Isso pode ser percebido porque os modelos com e sem os componentes uniformes não possuem alterações no poder de explicação (Tabela 3), indicando que os componentes uniformes não possuem efeitos grandes. Isso demonstra que a conformação total das asas é muito similar entre os gêneros, e apenas em pontos localizados há diferenciação entre elas.

**Tabela 3.** Resumo da Análise de Variância Multivariada entre machos dos gêneros *Microcerella* e *Oxysarcodexia*. Sendo que GL representa os graus de liberdade e GL Den. os graus de liberdade do denominador.

MANOVA	Wilks $\lambda$	Aprox. F	GL	GL Den.	Prob. F
Com componentes uniformes	0,0085809	43,9389	136	2828,9	<0,0001
Sem componentes uniformes	0,0119041	45,3148	128	2835,1	<0,0001

#### 4.1.2 Os gêneros diferem no formato e tamanho das asas?

Os resumos das análises de tamanho de centróide e de conformação realizados por meio da ANOVA de Procrustes estão mostrados nas tabelas 4 e 5. Como o classificador repetição não apresentou resultados significativos, indica que não existem erros de marcação maiores do que o esperado ao acaso.

Os valores dos resultados apresentados demonstram que há grande diferença no que se refere ao tamanho e conformação das asas entre os gêneros.

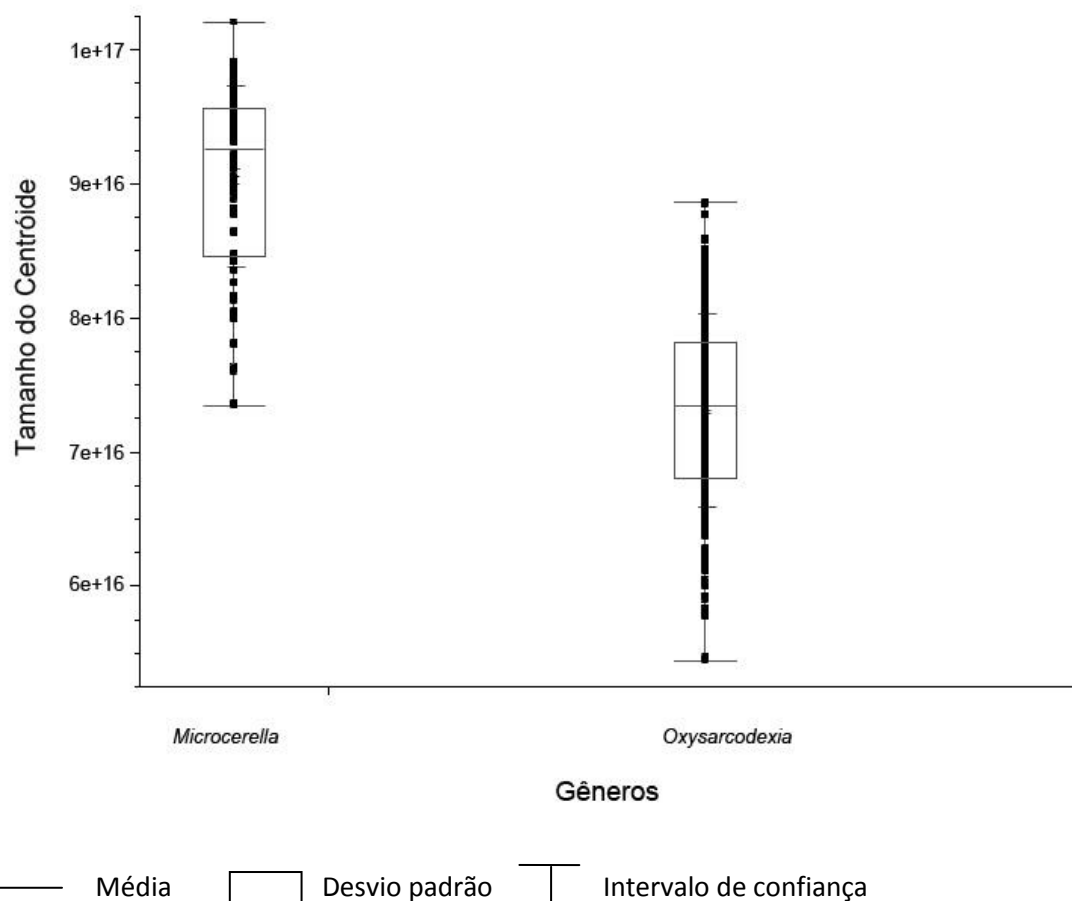
**Tabela 4.** Resumo da análise de tamanho do centróide pela ANOVA de Procrustes entre machos dos gêneros *Oxysarcodexia* e *Microcerella*. Os classificadores extraídos dos dados foram gênero, indivíduo e repetição. Sendo que SQ representa as somas dos quadrados, QM os quadrados médios e GL os graus de liberdade.

Classificador	SQ	QM	GL	F	P
<b>Gênero</b>	3646528,467406	3646528,467406	1	358,49	<0,0001
<b>Indivíduo</b>	996858,085686	10172,021283	98	8485,98	<0,0001
<b>Repetição</b>	239,737024	1,198685	200	0	1,0000
<b>Resíduos</b>	2777152,039470	6171,448977	450		

**Tabela 5.** Resumo da análise de conformação pela ANOVA de Procrustes entre os machos de *Oxysarcodexia* e *Microcerella*. Os classificadores extraídos dos dados foram gênero, indivíduo e repetição. Sendo que SQ representa as somas dos quadrados, QM os quadrados médios e GL os graus de liberdade.

Classificador	SQ	QM	GL	F	P
<b>Gênero</b>	0,07674609	0,0022572379	34	54,07	<0,0001
<b>Indivíduo</b>	0,13911115	0,0000417500	3332	17,64	<0,0001
<b>Repetição</b>	0,01609062	0,0000023663	6800	0	1,0000
<b>Resíduos</b>	0,27571679	0,0000180207	15300		

Na figura 6 é possível observar as descrições estatísticas da distribuição dos tamanhos de centróide alares, tais como médias, erros padrão e intervalos de confiança. Através desse gráfico podemos observar que o tamanho das asas dos indivíduos do gênero *Microcerella* é estatisticamente maior que o das asas dos indivíduos do gênero *Oxysarcodexia*.



**Figura 6.** Gráficos de variação de tamanhos de centróide dos gêneros *Microcerella* e *Oxysarcodexia*. Nota-se que os tamanhos de centróide de *Microcerella* (representado pela espécie *M. halli*) possui valores superiores aos de *Oxysarcodexia* (representado pelas espécies *O. culmiforceps*, *O. paulistanensis*, *O. riograndensis*, *O. thornax*).

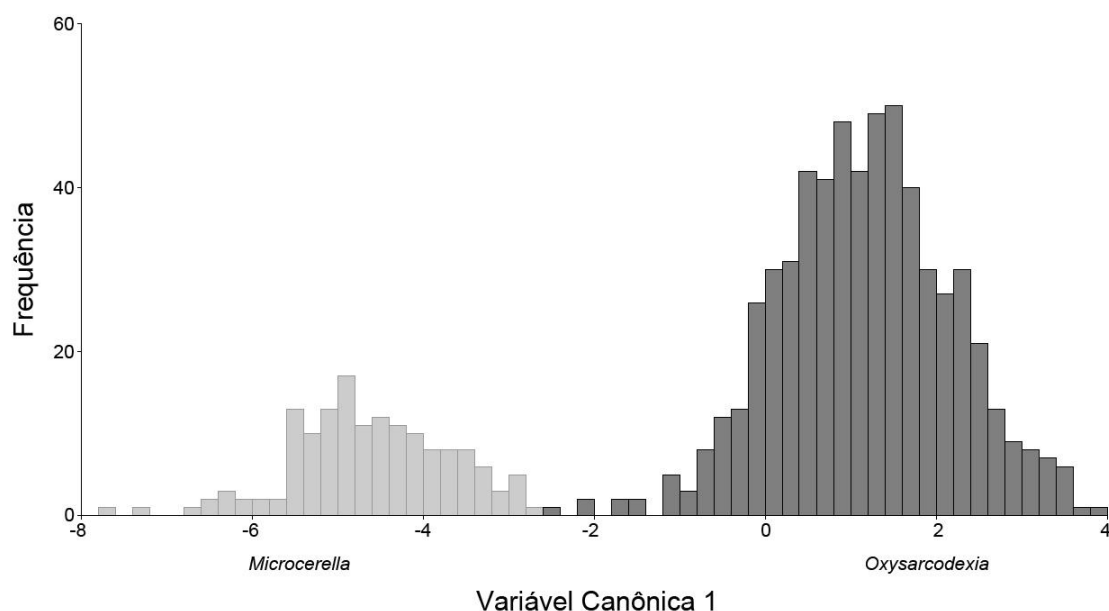
#### 4.1.3 Qual a variação de conformação da asa em cada grupo?

A análise de variáveis canônicas forneceu quatro diferentes variáveis canônicas (Tabela 6) que explicam 100% da variação total. Nota-se que os dois primeiros eixos são suficientes para explicar a maior parte da variação entre os gêneros (80%).

**Tabela 6.** Resumo da Análise de Variáveis Canônicas entre machos dos gêneros *Oxysarcodexia* e *Microcerella*.

Variável Canônica	Autovalores	% de Variância	% de Variância Acumulada
CV1	7,39136081	63,591	63,591
CV2	1,90810631	16,416	80,007
CV3	1,51661255	13,048	93,055
CV4	0,80728839	6,945	100,000

Na figura 7 observa-se a projeção dos indivíduos em relação ao primeiro eixo canônico que demonstra uma definição visual bem aparente entre *Oxysarcodexia* e *Microcerella*. O histograma apresenta esse último gênero bem diferenciado do primeiro, associado aos valores positivos dos eixos ortogonais enquanto que *Oxysarcodexia* se apresenta associado aos valores negativos do plano cartesiano.



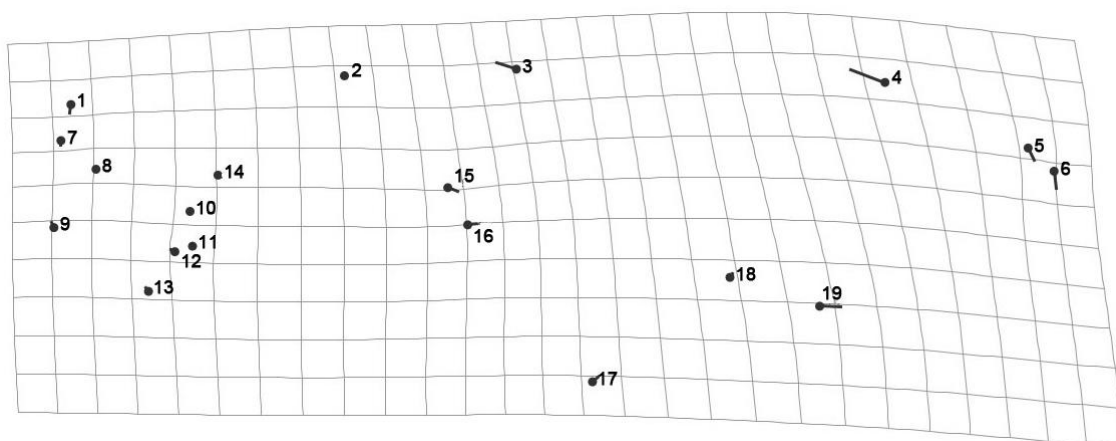
**Figura 7.** Histograma de distribuição dos indivíduos ao longo da CV1 resultante da comparação entre as asas dos machos dos gêneros *Microcerella* e *Oxysarcodexia*. *Microcerella* está representado pelas barras mais claras e *Oxysarcodexia* pelas mais escuras. Notar que há grande diferenciação entre os gêneros e nenhuma sobreposição entre eles.

As grades de deformação e as reconstruções gráficas das asas obtidas comparando os dois gêneros (Figuras 8 e 9), demonstram que as variáveis 3, 4, 5, 6 e 19 são as que mais contribuem para a diferenciação das espécies dos gêneros no primeiro eixo canônico.

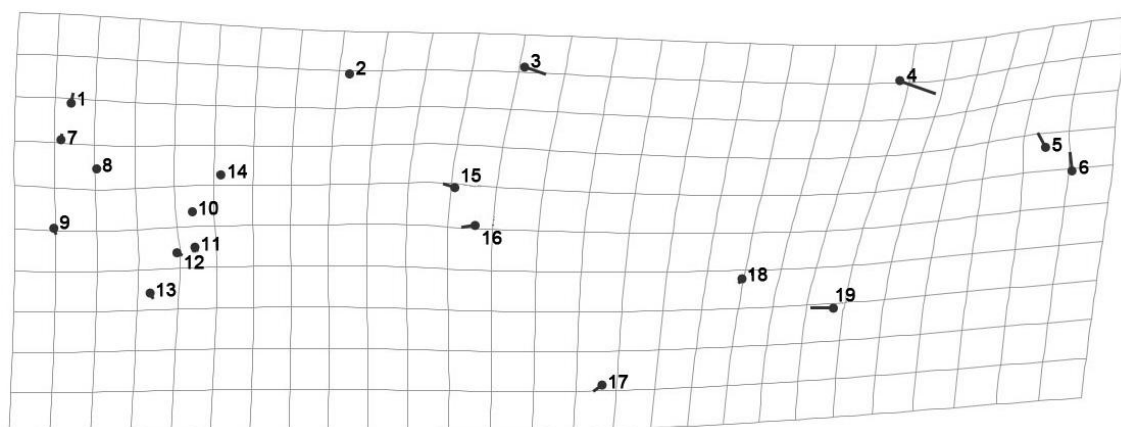
Como podemos observar nas figuras 8A e 9A, que apresenta a grade de deformação e a reconstrução gráfica para *Microcerella*, os vetores dos pontos 3 e 4 migram longitudinalmente para a porção basal da asa, alargando-a. Os pontos 5 e 6 migram em direção ao eixo posterior da asa, deixando o ápice mais rombudo. O marco 19 migra longitudinalmente ao comprimento da asa em direção ao ápice. As deformações desses marcos demonstram que, em comparação à configuração consenso, as asas de *Microcerella* apresentam um formato mais arredondado e mais largo (Figura 9A). Em contrapartida, a grade de deformação (Figura 8B) e a reconstrução gráfica para *Oxysarcodexia* (Figura 9B) apresentam padrões de deslocamento dos pontos de conformação oposta ao de *Microcerella*. De acordo com a observação dessas deformações, pode-se notar que os vetores dos pontos 3 e 4 tendem a afilar a asa, deslocando-se

obliquamente no sentido do comprimento da asa da região anterior para o ápice. O ponto 19 se desloca longitudinalmente no sentido do comprimento da asa em direção à base. Essas deformações, comparadas à configuração consenso, demonstram uma tendência a um formato mais afilado na porção apical da asa e levemente mais estreito no sentido da margem costal à margem anal.

**A**

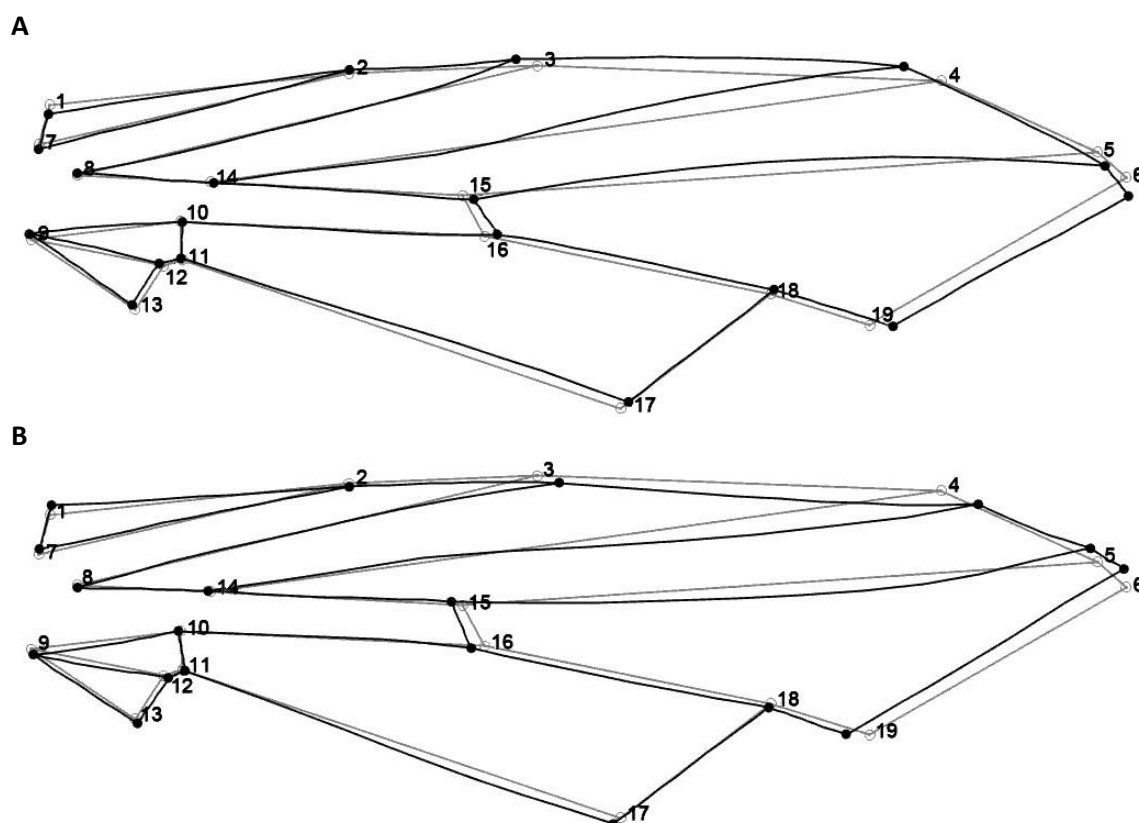


**B**



**Figura 8.** Diagramas de deformações derivados da CV1 resultante da comparação entre as asas dos machos dos gêneros *Microcerella* e *Oxysarcodexia*. **A** - Representação do extremo negativo, onde há maior distribuição de *Microcerella*. Os vetores escuros representam as direções das deformações da configuração do gênero em relação à configuração consenso e a grade clara representa as deformações nas asas de *Microcerella*. **B** - Representação do extremo positivo, onde há maior distribuição de *Oxysarcodexia*. Os vetores escuros representam as direções das deformações da configuração do gênero em relação à configuração consenso e a grade clara representa as deformações nas asas de *Oxysarcodexia*.





**Figura 9.** Reconstruções gráficas das asas derivadas das deformações obtidas com a CV1 resultante da comparação entre as asas dos machos dos gêneros *Microcerella* e *Oxysarcodexia*, com escala de visualização 10. **A** - Reconstrução gráfica das asas de machos de *Microcerella*. As linhas mais escuras demonstram a configuração de asa de *Microcerella* e as linhas mais claras a configuração consenso. Em comparação a esta configuração, *Microcerella* possui um formato de asa mais arredondado e levemente mais largo. **B** - Reconstrução gráfica das asas de machos de *Oxysarcodexia*. As linhas mais escuras demonstram a configuração de asa de *Oxysarcodexia* e as linhas mais claras a configuração consenso. Em comparação a esta configuração, *Oxysarcodexia* possui um formato de asa mais afilado e levemente mais estreito.

#### 4.1.4 A separação dos grupos é bem definida? E quão diferentes eles são?

Os resultados obtidos com a análise discriminante encontram-se na tabela 7. Nota-se que a análise foi realizada par a par com os machos das cinco espécies e foi possível uma separação bem definida de todos os grupos. O valor de p inferior a 0,001 para cada combinação indica que a separação dos grupos possui uma probabilidade muito baixa de ter ocorrido ao acaso.

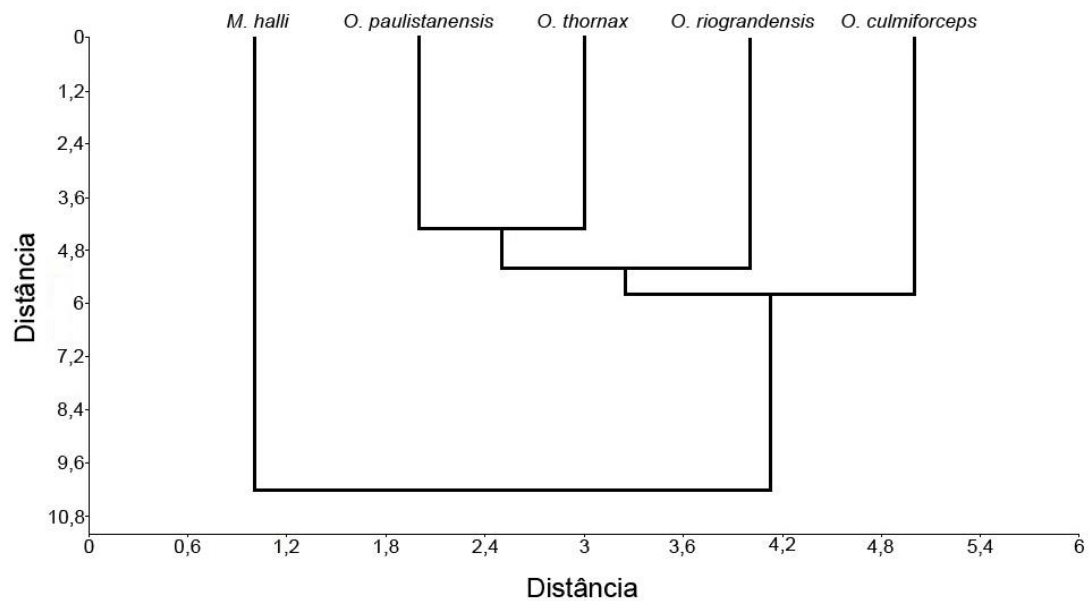
**Tabela 7.** Resumo da análise discriminante par a par entre os gêneros *Microcerella* e *Oxysarcodexia*. *Microcerella* está representado por MIC e *Oxysarcodexia* por OXY.

Par	Distância de Mahalanobis	Probabilidade	Validação Cruzada
MIC - OXY	5,7628	<0,001	99,5%

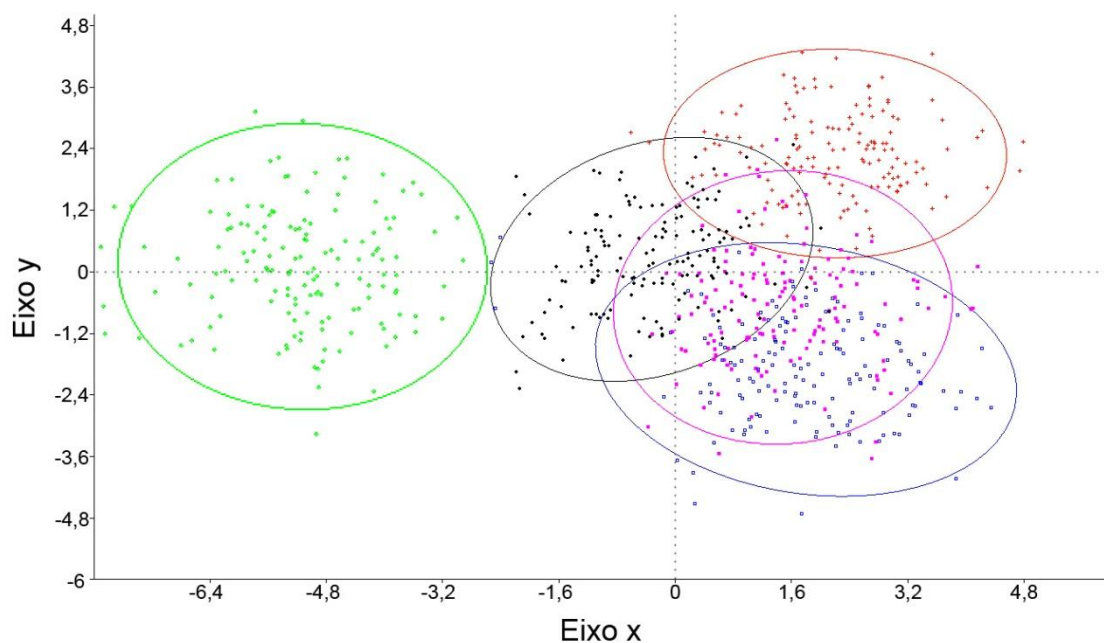
O teste de validação cruzada (Tabela 7), realizado de acordo com as equações geradas a partir das análises discriminantes, indica que a classificação de um novo indivíduo em um dos grupos se fará com uma probabilidade de acerto muito grande (99,5%), ou seja, que se obtivermos uma asa aleatória, apenas utilizando os dados morfométricos de tal estrutura, será possível classificá-la corretamente.

As combinações que incluem a espécie *Microcerella halli* expressam valores mais elevados, indicando que essa espécie se distingue das outras. Essa informação pode ser corroborada observando o dendograma de similaridade e morfológica entre as espécies (Figura 10), construído com base nas distâncias de Mahalanobis (Tabela 7). A partir dessas informações fica claro que, dentre as espécies observadas, *M. halli* é a que está mais distante de todas as outras espécies, pois ficou isolada em um ramo na base do dendograma. Isso demonstra uma similaridade morfológica muito menor entre *M. halli* e as demais espécies, devido ao fato de que pertence a um táxon diferente.

Há dados contundentes da morfologia das asas que indicam que, através dos pontos inseridos nas asas, há a possibilidade de uma distinção bem definida de espécies. Isso pode ser observado através do gráfico de dispersão (Figura 11), elaborado a partir da posição relativa dos centróides das configurações de asas das espécies pertencentes a dois gêneros distintos. Nesse gráfico, é possível observar a partir das funções discriminantes 1 e 2, um agrupamento bem definido (grupos esses demonstrados através das elipses) dos indivíduos. Podemos perceber que as espécies pertencentes ao gênero *Oxysarcodexia* (*O. culmiforceps*, *O. paulistanensis*, *O. riograndensis* e *O. thornax*) encontram-se claramente sobrepostos no gráfico, enquanto que a espécie pertencente ao gênero *Microcerella* (*M. halli*) localiza-se no espaço de forma bem distinta.



**Figura 10.** Dendrograma de similaridade morfológica de *M. halli*, *O. culmiforceps*, *O. paulistanensis*, *O. riograndensis* e *O. thornax* com valores das distâncias de Mahalanobis obtidas na análise discriminante.



**Figura 11.** Representação gráfica da análise de discriminantes canônicas para cinco espécies de dois gêneros diferentes. As elipses indicam intervalo de 95% de confiança. Os pontos verdes designam a espécie *M. halli*, os vermelhos *O. culmiforceps*, os pretos *O. paulistanensis*, os azuis *O. riograndensis* e os rosas *O. thornax*. Nota-se uma sobreposição pronunciada entre as espécies de *Oxysarcodexia*, enquanto que *M. halli* encontra-se bem distante no espaço ortogonal, o que evidencia grande separação dos gêneros.

## 4.2 Análise entre espécies de *Oxysarcodexia culmiforceps*, *O. paulistanensis*, *O. riograndensis* e *O. thornax*

### 4.2.1 As variações são globais ou localizadas?

A tabela 8 mostra o resumo da MANOVA para a análise inter-específica. Os resultados obtidos com os modelos com e sem os componentes uniformes não alteram o poder de explicação (Tabela 8). Isso significa que a presença dos componentes uniformes não interfere nos resultados de forma efetiva em comparação às análises realizadas sem os componentes uniformes, demonstrando que as mudanças ocorrentes são mudanças localizadas e não mudanças globais nas asas.

**Tabela 8.** Resumo da Análise de Variância Multivariada entre os machos das espécies *O. culmiforceps*, *O. paulistanensis*, *O. riograndensis* e *O. thornax*. Sendo que GL representa os graus de liberdade e GL Den. os graus de liberdade do denominador.

MANOVA	Wilks $\lambda$	Aprox. F	GL	GL Den.	Prob. F
Com componentes uniformes	0,0309583	36,2440	102	1686,7	<0,0001
Sem componentes uniformes	0,0430884	32,7677	96	1692,2	<0,0001

### 4.2.2 As espécies diferem no formato e tamanho das asas?

Nas tabelas 9 e 10 é possível observar os resumos das análises de tamanho de centróide e de conformação, para as quatro espécies. Esses resultados são provenientes da ANOVA de Procrustes. Como o classificador repetição não apresentou resultados significativos, indica que não existem erros de marcação maiores do que o esperado ao acaso. Os demais resultados mostram que há grande diferença no que se refere à conformação e tamanho das asas entre as quatro espécies dentro de *Oxysarcodexia*, apresentando resultados muito significativos entre elas ( $p < 0,0001$ ).

**Tabela 9.** Resumo da análise de tamanho do centróide pela ANOVA de Procrustes entre machos de *O. culmiforceps*, *O. paulistanensis*, *O. riograndensis* e *O. thornax*. Os classificadores extraídos dos dados foram espécie, indivíduo e repetição. Sendo que SQ representa as somas dos quadrados, QM os quadrados médios e GL os graus de liberdade.

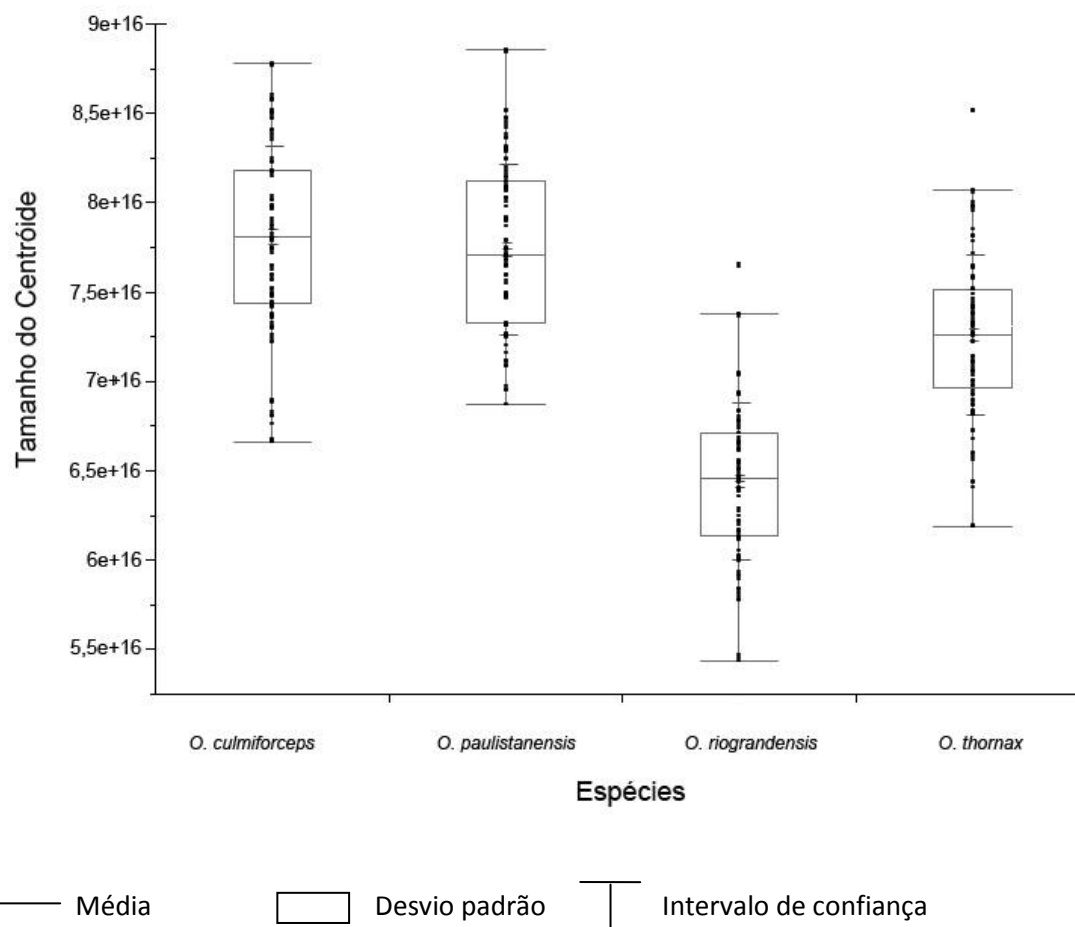
Classificador	SQ	QM	GL	F	P
<b>Espécie</b>	1791355,268494	597118,422831	3	89,74	<0,0001
<b>Indivíduo</b>	1304182,569854	6653,992703	196	6751,60	<0,0001
<b>Repetição</b>	394,216984	0,985542	400	0	1,0000

**Tabela 10.** Resumo da análise de conformação pela ANOVA de Procrustes entre os machos de *O. culmiforceps*, *O. paulistanensis*, *O. riograndensis* e *O. thornax*. Os classificadores extraídos dos dados foram espécie, indivíduo e repetição. Sendo que SQ representa as somas dos quadrados, QM os quadrados médios e GL os graus de liberdade.

Classificador	SQ	QM	GL	F	P
<b>Espécie</b>	0,05445876	0,0005339094	102	14,04	<0,0001
<b>Indivíduo</b>	0,25341708	0,0000380278	6664	12,19	<0,0001
<b>Repetição</b>	0,04241674	0,0000031189	13600	0	1,0000

Na figura 12 é possível observar as descrições estatísticas da distribuição dos tamanhos de centróide alares, tais como médias, erros padrão e intervalos de confiança. Baseando-se nas análises de tamanho de centróide, percebe-se que dentre as quatro espécies, *O. riograndensis* é a que possui o menor tamanho de asa, enquanto que as outras possuem tamanhos similares.

Como resultado das tabelas 9 e 10 e da figura 12, podemos observar que cada espécie possui características específicas quando comparadas uma a outra, apresentando grandes diferenças no que se refere à conformação e ao tamanho das asas.



**Figura 12.** Gráficos de variação de tamanhos de centróide das espécies *O. culmiforceps*, *O. paulistanensis*, *O. riograndensis* e *O. thornax*. Nota-se que os tamanhos de centróide de *O. culmiforceps* e *O. paulistanensis* são bem próximos e apresentam valores altos, *O. thornax* apresenta valores medianos, enquanto que *O. riograndensis* apresenta o menor tamanho de centróide entre as espécies estudadas.

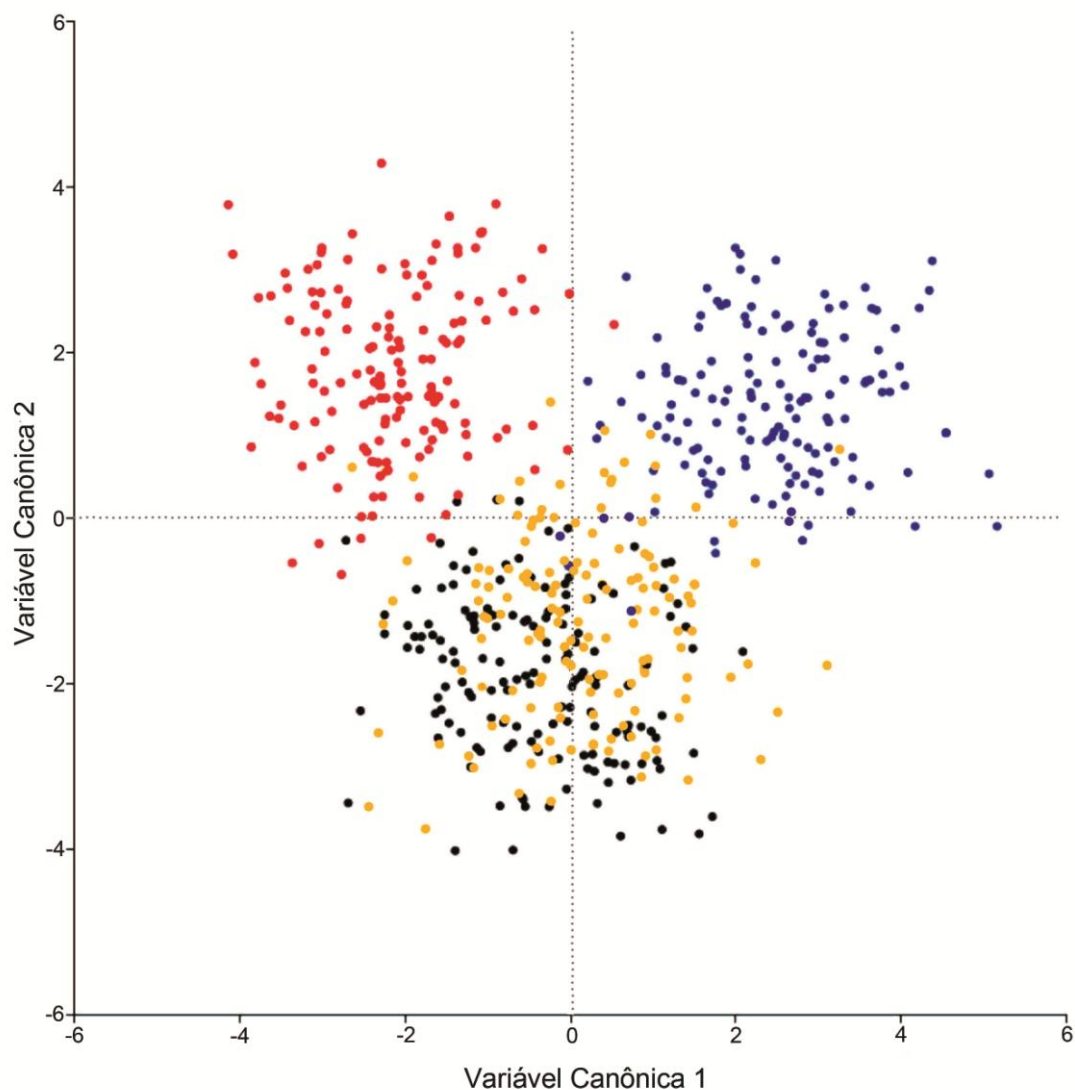
#### 4.2.3 Qual a variação de conformação da asa em cada grupo?

Com a realização da CVA foram obtidas três variáveis canônicas que explicam 100% da variação total das espécies (Tabela 11). Dentre essas variáveis, os dois primeiros eixos são suficientes para explicar 78% de toda a variação entre as espécies.

**Tabela 11:** Resumo da Análise de Variáveis Canônicas entre machos de *Oxysarcodexia culmiforceps*, *O. paulistanensis*, *O. riograndensis* e *O. thornax*.

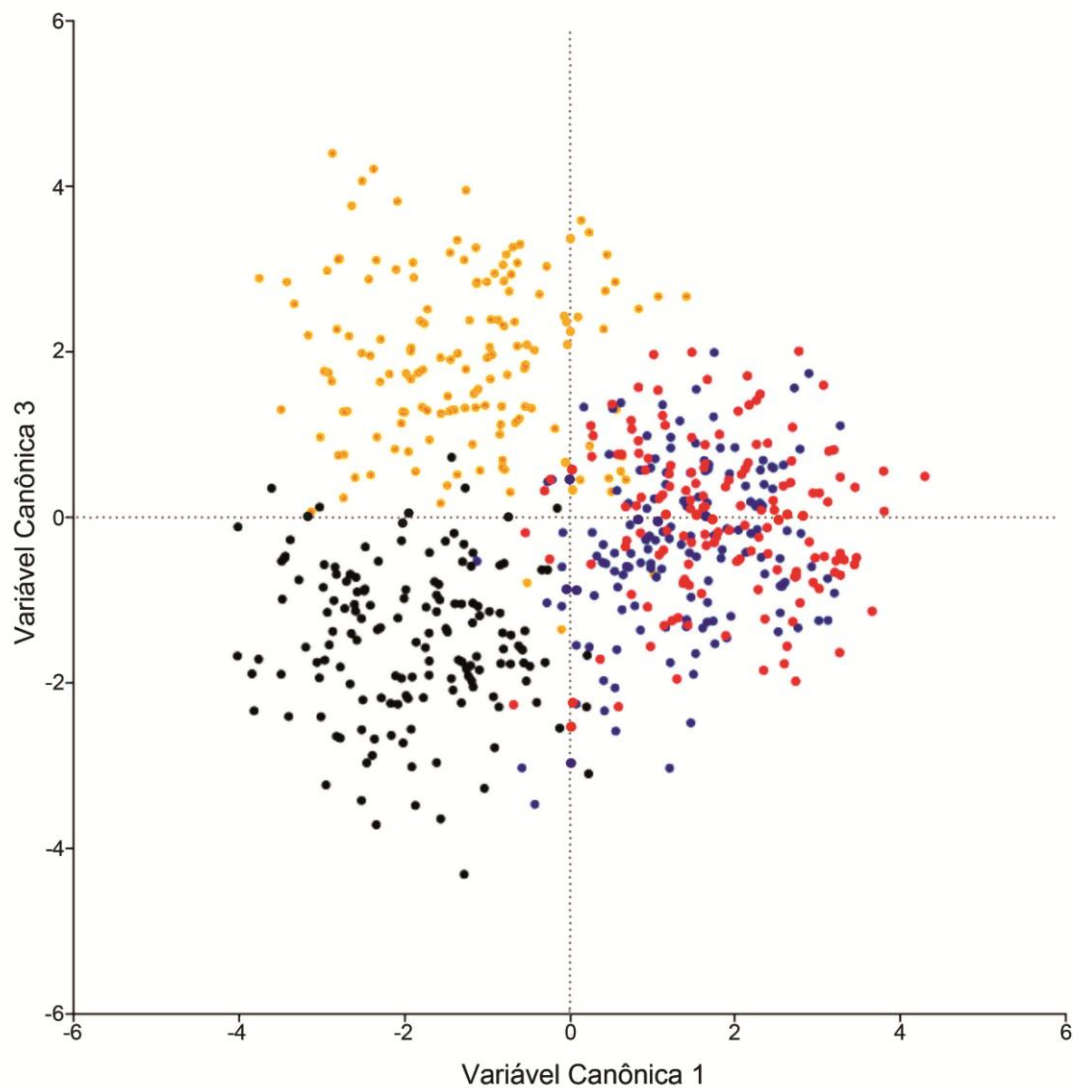
Variável Canônica	Autovalores	% de Variância	% de Variância Acumulada
CV1	2,66854326	39,769	39,769
CV2	2,58551963	38,532	78,302
CV3	1,45596547	21,698	100,000

Graficamente a projeção dos indivíduos no primeiro eixo canônico pode ser observado na figura 13. Analisando esse gráfico, podemos verificar que nos eixos correspondentes às variáveis canônicas 1 e 2, é possível notar a diferenciação de três grupos que correspondem a *O. culmiforceps*, *O. riograndensis* e *O. paulistanensis* somado a *O. thornax*. A definição é clara para *O. culmiforceps* e *O. riograndensis*, de modo que ambas as espécies são passíveis de separação em relação ao eixo 1. *O. riograndensis* encontra-se associado aos valores positivos e *O. culmiforceps* aos valores negativos. *O. paulistanensis* e *O. thornax* encontram-se sobrepostas, não sendo possível a definição das espécies utilizando esses eixos canônicos.



**Figura 13.** Diagrama de dispersão em relação à CV1 e CV2 das resultante da comparação entre as asas dos machos das espécies *O. culmiforceps*, *O. paulistanensis*, *O. riograndensis* e *O. thornax*. *Oxysarcodexia culmiforceps* está representado pelos pontos vermelhos, *O. paulistanensis* pelos pontos pretos, *O. riograndensis* pelos pontos azuis e *O. thornax* pelos pontos laranja. Notar que há a diferenciação de três grupos: *O. culmiforceps*, *O. riograndensis* e *O. paulistanensis* + *O. thornax*.

A figura 14 mostra a projeção dos indivíduos em relação aos eixos 2 e 3. É possível perceber que esses eixos diferenciam três grupos distintos, correspondentes às espécies *O. paulistanensis*, *O. thornax* e um terceiro grupo que une *O. culmiforceps* e *O. riograndensis*. Ao contrário das duas primeiras variáveis canônicas (Figura 13), nas quais não era possível a separação de *O. paulistanensis* e *O. thornax*, os eixos 2 e 3 (Figura 14) diferenciam essas espécies, estando *O. thornax* relacionada aos valores positivos e *O. paulistanensis* relacionada aos valores negativos.



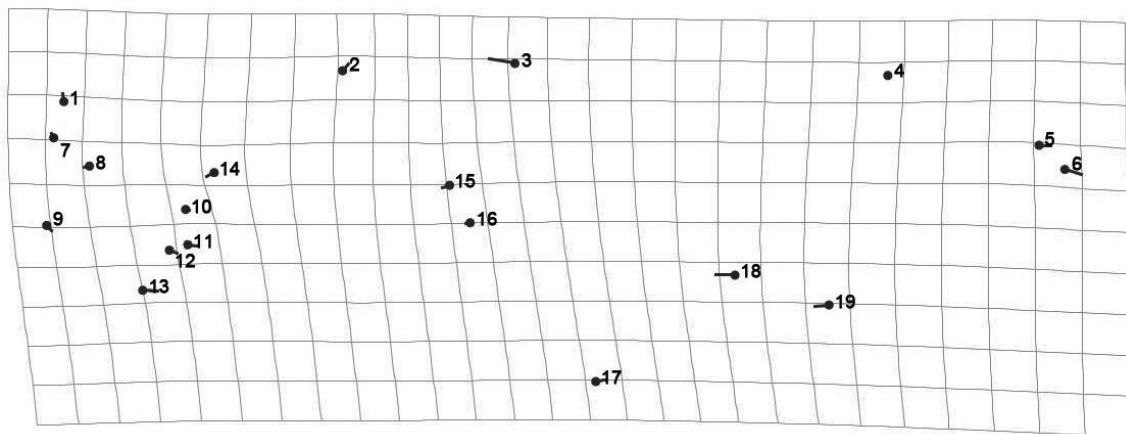
**Figura 14.** Diagrama de dispersão em relação à CV2 e CV3 das resultante da comparação entre as asas dos machos das espécies *O. culmiforceps*, *O. paulistanensis*, *O. riograndensis* e *O. thornax*. *Oxysarcodexia culmiforceps* está representado pelos pontos vermelhos, *O. paulistanensis* pelos pontos pretos, *O. riograndensis* pelos pontos azuis e *O. thornax* pelos pontos laranja. Notar que há a diferenciação de três grupos: *O. paulistanensis*, *O. thornax* e *O. culmiforceps* + *O. riograndensis*.



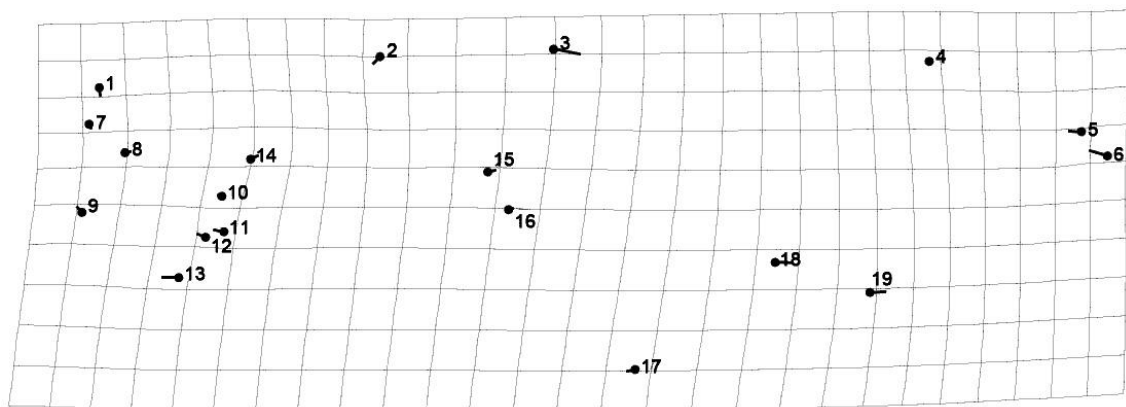
Para retratar o que diferencia cada espécie no espaço multivariado na projeção dos eixos 1, 2 e 3, é mais fácil observar as grades de deformação obtidas através da CVA. As variáveis 3, 5, 6, 18 e 19 foram as que mais se alteraram nas projeções da primeira variável canônica, contribuindo diretamente para a discriminação das espécies. Nas figuras 15A e 16A, que apresentam a grade de deformação e a reconstrução gráfica para *O. riograndensis*, o vetor do ponto 3 desloca-se para a parte basal da asa, enquanto que os pontos 5 e 6 se deslocam de forma longitudinal em direção à porção apical de modo a alongar a asa. Já os pontos 18 e 19 se deformam longitudinalmente na asa em direção à porção basal, fazendo com que somada às deformações dos pontos 3, 5 e 6, a asa tenha um formato levemente robusto, com a porção apical um pouco mais alongada (Figura 16A).

As deformações dos pontos da espécie *O. culmiforceps* seguem um padrão oposto ao de *O. riograndensis* (Figuras 15B e 16B). O ponto 3 se deforma em direção à porção apical da asa, enquanto que os vetores dos pontos 5 e 6 possuem deformações longitudinais em direção à porção basal alar. Os pontos 18 e 19, que para *O. riograndensis* se deformam em direção à porção basal, para *O. culmiforceps* se deslocam longitudinalmente em direção ao ápice da asa. Essas deformações fazem com que a asa de *O. culmiforceps* seja mais curta e levemente mais estreita em comparação à configuração consenso.

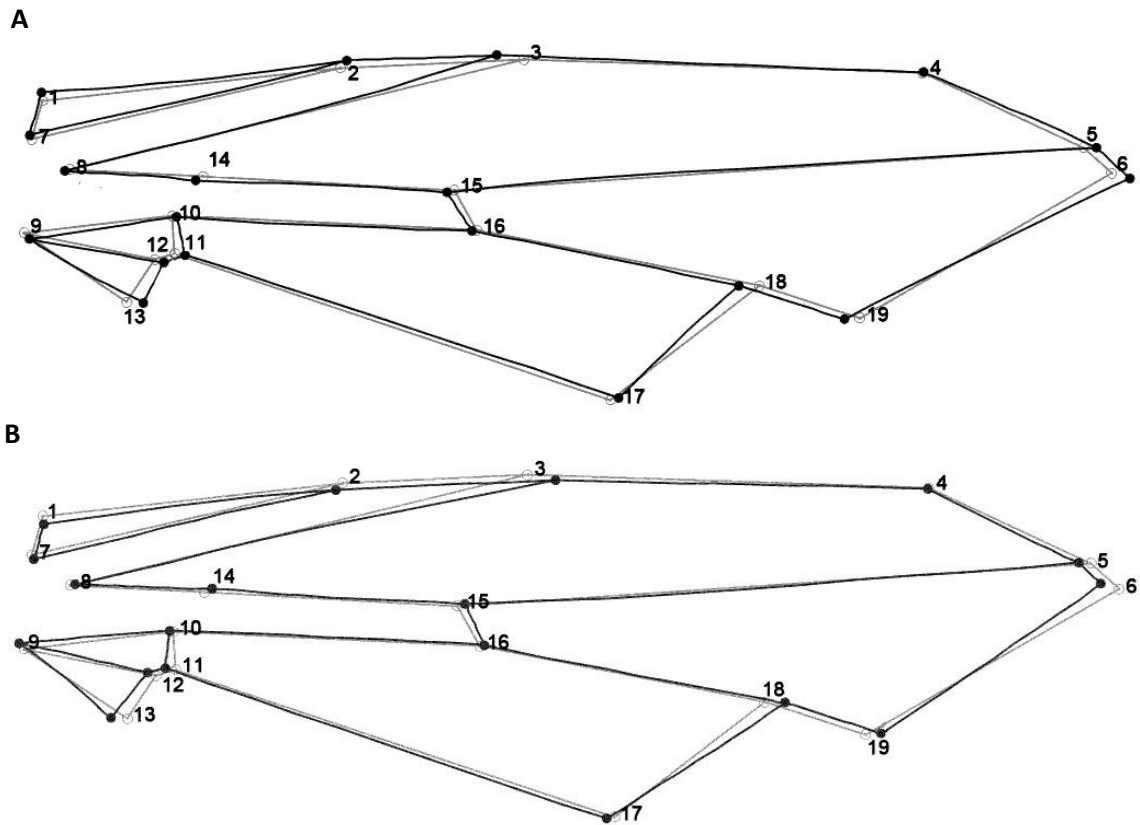
A



B



**Figura 15.** Diagrama de deformação derivado do CV1 resultante da comparação entre as asas dos machos das espécies *O. culmiforceps*, *O. paulistanensis*, *O. riograndensis* e *O. thornax*. **A** - Representação do extremo positivo, onde há maior distribuição de *O. riograndensis*. Os vetores escuros representam as direções das deformações da configuração da espécie em relação à configuração consenso e a grade clara representa as deformações nas asas de *O. riograndensis*. **B** - Representação do extremo negativo onde há maior distribuição de *O. culmiforceps*. Os vetores escuros representam as direções das deformações da configuração da espécie em relação à configuração consenso e a grade clara representa as deformações nas asas de *O. culmiforceps*.

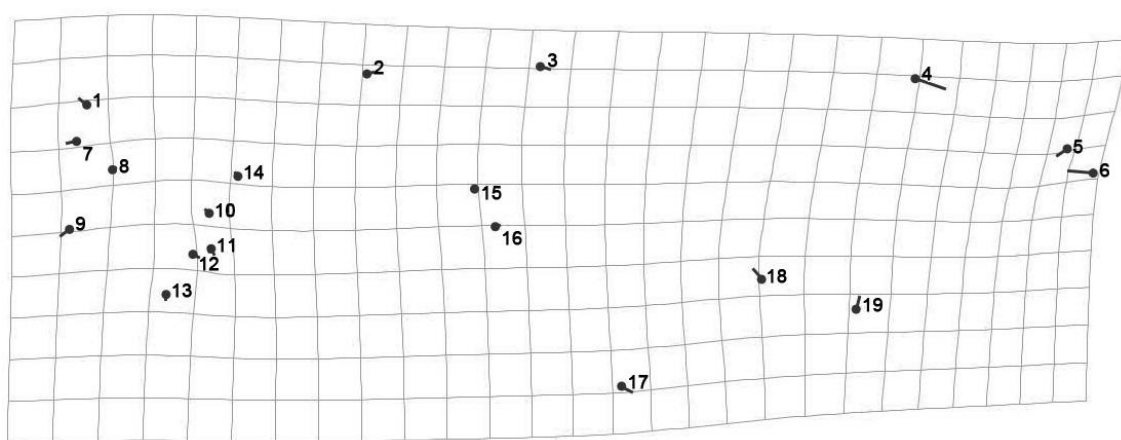


**Figura 16.** Reconstruções gráficas das asas derivadas das deformações obtidas com a CV1 resultante da comparação entre as asas dos machos das espécies *O. culmiforceps*, *O. paulistanensis*, *O. riograndensis* e *O. thornax*, com escala de visualização 10. **A** - Reconstrução gráfica das asas de machos de *O. riograndensis*. As linhas mais escuras demonstram a configuração de asa de *O. riograndensis* e as linhas mais claras a configuração consenso. Em comparação a esta configuração, *O. riograndensis* possui um formato de asa mais robusto, com a porção apical da asa levemente mais alongada. **B** - Reconstrução gráfica das asas de machos de *O. culmiforceps*. As linhas mais escuras demonstram a configuração de asa de *O. culmiforceps* e as linhas mais claras a configuração consenso. Em comparação a esta configuração, *O. culmiforceps* possui um formato de asa mais estreito, com a porção apical da asa levemente mais curta.

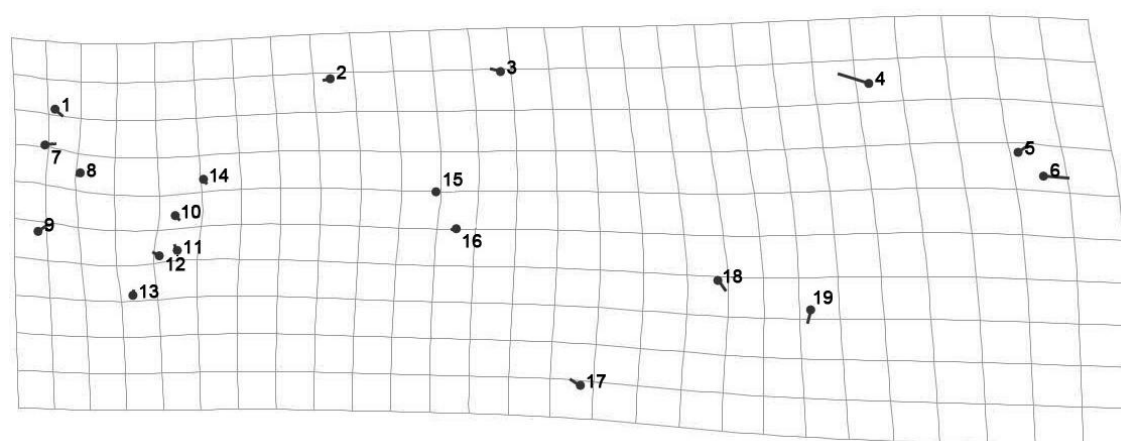
Abordando as deformações derivadas da terceira variável canônica que separa *O. paulistanensis* de *O. thornax*, podemos observar que os pontos 4, 5, 6, 17, 18 e 19 são muito importantes nas projeções da terceira variável canônica. Como podemos observar nas figuras 17A e 18A que apresentam a grade de deformação e a reconstrução gráfica para *O. paulistanensis*, o vetor do ponto 4 se desloca obliquamente ao comprimento da asa em direção ao ápice, enquanto que os pontos 5 e 6 movem-se em direção à base alar. O ponto 17 se desloca obliquamente em direção à porção posterior da asa. O eixo 18 se move em direção à porção anterior da asa, enquanto que o 19 em direção à porção apical da mesma. A junção dessas rotações dos pontos resulta em um ápice da asa mais pontiagudo e a base um pouco mais alargada (Figura 18A).

As deformações derivadas da terceira variável canônica para *O. thornax* ocorrem nos mesmos pontos que *O. paulistanensis*, porém com todos os seus vetores em direções opostas, como pode-se observar nas figuras 17B e 18B. O ponto 4 se desloca em direção à região anterior da asa. Os pontos 5 e 6 se rotacionam em direção ao ápice da asa, expandindo essa região. O ponto 17 se desloca obliquamente em direção à porção antero-basal da asa. Os pontos 18 e 19 movem-se em direção ao eixo posterior. Essas deformações todas descritas podem ser melhor visualizadas na figura 19B, podendo ser possível observar a configuração da asa, mais longa e robusta e com a base mais estreita que a configuração consenso.

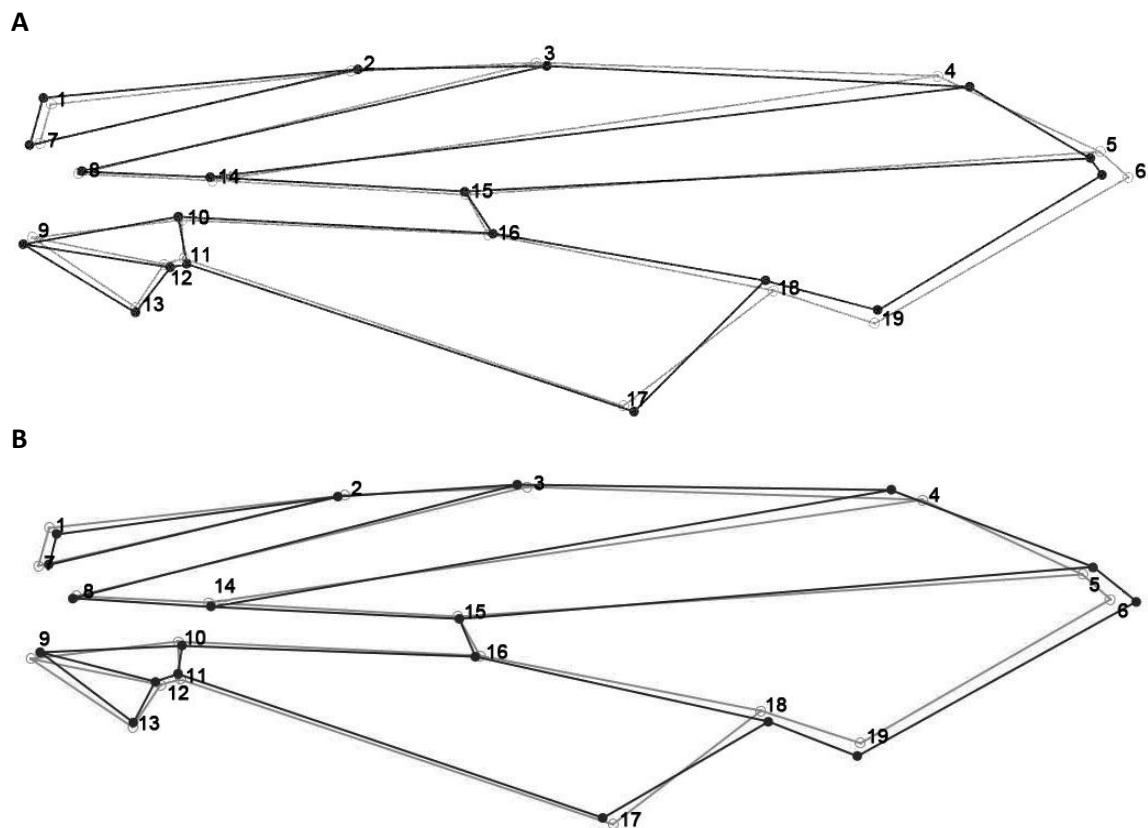
**A**



**B**



**Figura 17.** Diagrama de deformação derivado do CV3 resultante da comparação entre as asas dos machos das espécies *O. culmiforceps*, *O. paulistanensis*, *O. riograndensis* e *O. thornax*. **A** - Representação do extremo negativo, onde há maior distribuição de *O. paulistanensis*. Os vetores escuros representam as direções das deformações da configuração do gênero em relação à configuração consenso e a grade clara representa as deformações nas asas de *O. paulistanensis*. **B** - Representação do extremo positivo onde há maior distribuição de *O. thornax*. Os vetores escuros representam as direções das deformações da configuração do gênero em relação à configuração consenso e a grade clara representa as deformações nas asas de *O. thornax*.



**Figura 18.** Reconstruções gráficas das asas derivadas das deformações obtidas com a CV3 resultante da comparação entre as asas dos machos das espécies *O. culmiforceps*, *O. paulistanensis*, *O. riograndensis* e *O. thornax*, com escala de visualização 10. **A** - Reconstrução gráfica das asas de machos de *O. paulistanensis*. As linhas mais escuras demonstram a configuração de asa de *O. paulistanensis* e as linhas mais claras a configuração consenso. Em comparação a esta configuração, *O. paulistanensis* possui um formato de asa mais estreito, com a porção apical da asa levemente mais curta. **B** - Reconstrução gráfica das asas de machos de *O. thornax*. As linhas mais escuras demonstram a configuração de asa de *O. thornax* e as linhas mais claras a configuração consenso. Em comparação a esta configuração, *O. thornax* possui um formato de asa mais robusto, com a porção apical da asa levemente mais alongada.

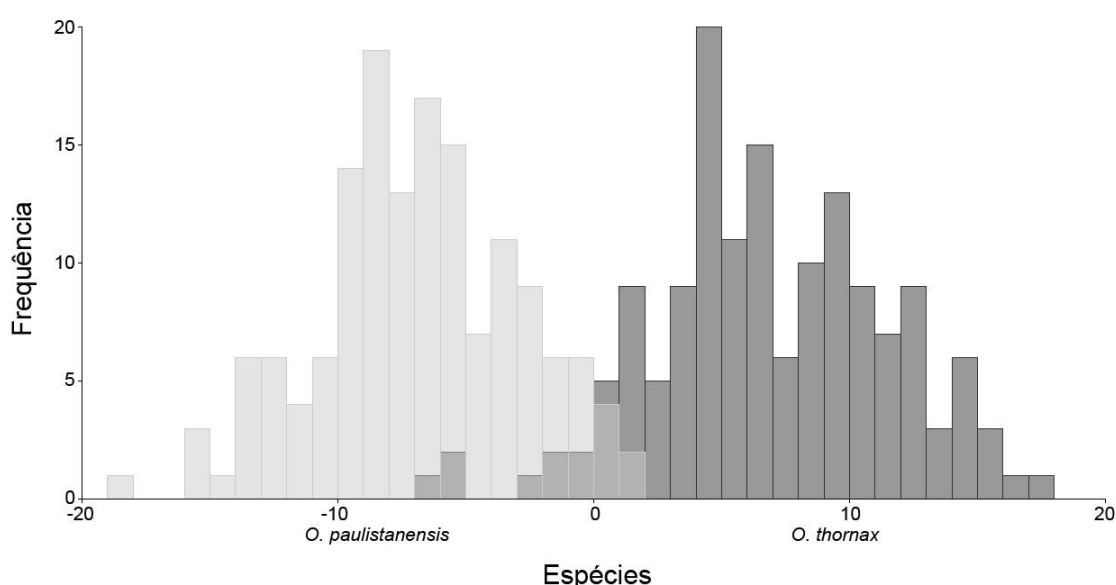
#### 4.2.4 A separação dos grupos é bem definida? E quão diferentes eles são?

Na tabela 12 estão descritos os resultados obtidos com a análise de discriminação realizada com *O. culmiforceps*, *O. paulistanensis*, *O. riograndensis* e *O. thornax*. Podemos observar através dos valores da distância de Mahalanobis (Tabela 12) que ocorre uma separação bem definida de todas as espécies com base nas combinações par a par entre elas. Os valores de p inferiores a 0,001 para cada combinação indicam que a separação dos grupos possui uma probabilidade muito baixa de ter ocorrido ao acaso, fundamentando a separação dos grupos.

**Tabela 12.** Resumo da análise discriminante par a par para os gêneros *Microcerella* e *Oxysarcodexia*. C - *O. culmiforceps*; P - *O. paulistanensis*; R - *O. riograndensis*; T - *O. thornax*.

Par	Distância de Mahalanobis	Probabilidade	Validação Cruzada
C - P	4,7443	<0,001	99,33%
C - R	5,3640	<0,001	99,33%
C - T	4,4769	<0,001	98%
P - T	3,7709	<0,001	96%
P - R	4,9106	<0,001	99,33%
R - T	4,1748	<0,001	98,66%

O teste de validação cruzada (Tabela 12) apresentou êxito de mais de 90% na classificação das espécies como pertencentes aos seus respectivos grupos. As espécies *O. paulistanensis* e *O. thornax* demonstraram a menor porcentagem de erro no que se refere à classificação de um novo indivíduo em um dos grupos, apresentando índice de validação cruzada de 96%. Isso também pode ser observado na figura 19, na qual podemos observar uma região de sobreposição entre as duas espécies, que seriam esses 4% de casos erroneamente alocados. Com base nos dados de validação cruzada (Tabelas 12) e no dendograma de similaridade morfológica entre os grupos (Figura 10), fica claro que, dentre as espécies presentes na análise, essas duas possuem uma morfologia de asa mais semelhante no que se refere aos padrões de conformação das veias, em comparação aos outros táxons.



**Figura 19.** Gráfico de validação cruzada entre as espécies *O. paulistanensis* e *O. thornax*, salientando-se a área de sobreposição dos grupos. *Oxysarcodexia paulistanensis* está representada pelas barras mais claras, *O. thornax* pelas barras mais escuras e a área de sobreposição pelas barras de coloração intermediária.

#### 4.3 Análise de dimorfismo sexual entre machos e fêmeas de *Microcerella halli*

##### 4.3.1 As variações são globais ou localizadas?

Analisando os resultados obtidos através da MANOVA (Tabela 13), é possível perceber que as mudanças encontradas entre os machos e fêmeas de *M. halli* demonstram a ausência de alterações na explicação quando os componentes uniformes são excluídos da análise, significando que a conformação total das asas é muito similar entre os sexos dentro de uma mesma espécie e as deformações só ocorrem em pontos localizados.

**Tabela 13.** Resumo da Análise de Variância Multivariada entre machos e fêmeas da espécie *M. halli*. Sendo que GL representa os graus de liberdade e GL Den. os graus de liberdade do denominador.

MANOVA	Wilks $\lambda$	Aprox. F	GL	GL Den.	Prob. F
Com componentes uniformes	0,1305377	29,5810	34	151	<0,0001
Sem componentes uniformes	0,1395081	29,4910	32	153	<0,0001

##### 4.3.2 O formato e tamanho das asas diferem de acordo com o sexo?

O teste da ANOVA de Procrustes originou os resultados mostrados nas tabelas 14 e 15 que descrevem os dados obtidos nas análises de conformação e tamanho das asas de machos e fêmeas. O classificador repetição não apresentou resultados significativos. Isso indica que não existem erros de marcação maiores do que o esperado ao acaso. Os valores dos demais resultados apresentados demonstram que há grande diferença no que se refere ao tamanho e conformação das asas entre os indivíduos de sexos diferentes.

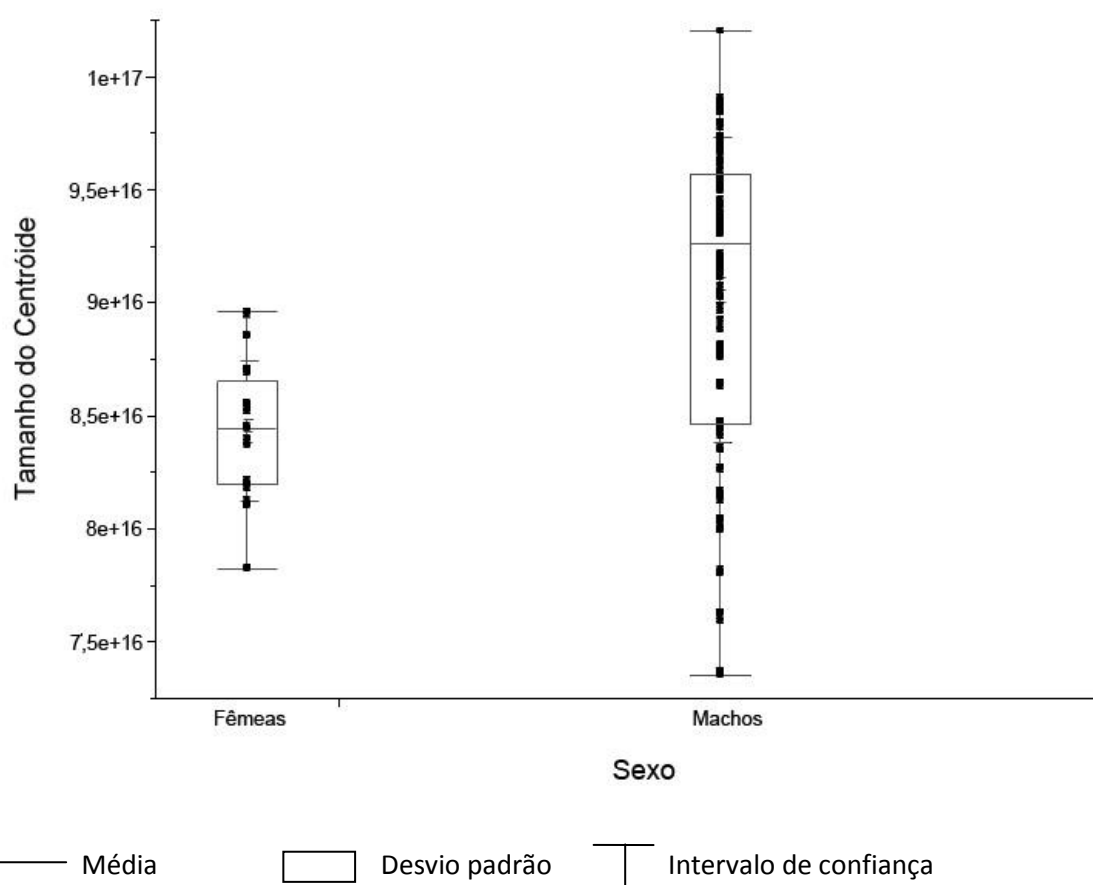
**Tabela 14.** Resumo da análise de tamanho do centróide pela ANOVA de Procrustes entre machos e fêmeas de *Microcerella halli*. Os classificadores extraídos dos dados foram sexo, indivíduo e repetição. Sendo que SQ representa as somas dos quadrados, QM os quadrados médios e GL os graus de liberdade.

Classificador	SQ	QM	GL	F	P
Sexo	113299,616693	113299,616693	1	9,55	<0,0030
Indivíduo	711927,311150	11865,455186	60	7896,66	<0,0001
Repetição	186,321312	1,502591	124	0	1,0000

**Tabela 15.** Resumo da análise de conformação pela ANOVA de Procrustes entre machos e fêmeas de *Microcerella halli*. Os classificadores extraídos dos dados foram sexo, indivíduo e repetição. Sendo que SQ representa as somas dos quadrados, QM os quadrados médios e GL os graus de liberdade.

Classificador	SQ	QM	GL	F	P
<b>Sexo</b>	0,01727319	0,0005080349	34	12,57	<0,0001
<b>Indivíduo</b>	0,08244962	0,0000404165	2040	23,68	<0,0001
<b>Repetição</b>	0,00719682	0,0000017070	416	0	1,0000

Podemos observar que cada sexo possui características específicas quando comparados um com o outro, apresentando grandes diferenças no que se refere à conformação e ao tamanho das asas. Os sexos são significativamente diferentes ( $p < 0,0001$ ) entre si no que se refere a essas duas variáveis. Podemos observar essa última afirmação mais claramente analisando a figura 20, que demonstra que os indivíduos do sexo masculino de *M. halli* apresentam características de tamanho de asa com uma variação extremamente grande dos espécimes femininos, possuindo maiores tamanhos alares.



**Figura 20.** Gráficos de variação de tamanhos de centróide de machos e fêmeas de *M. halli*. Nota-se que os tamanhos de centróide dos machos possui valores superiores aos das fêmeas.



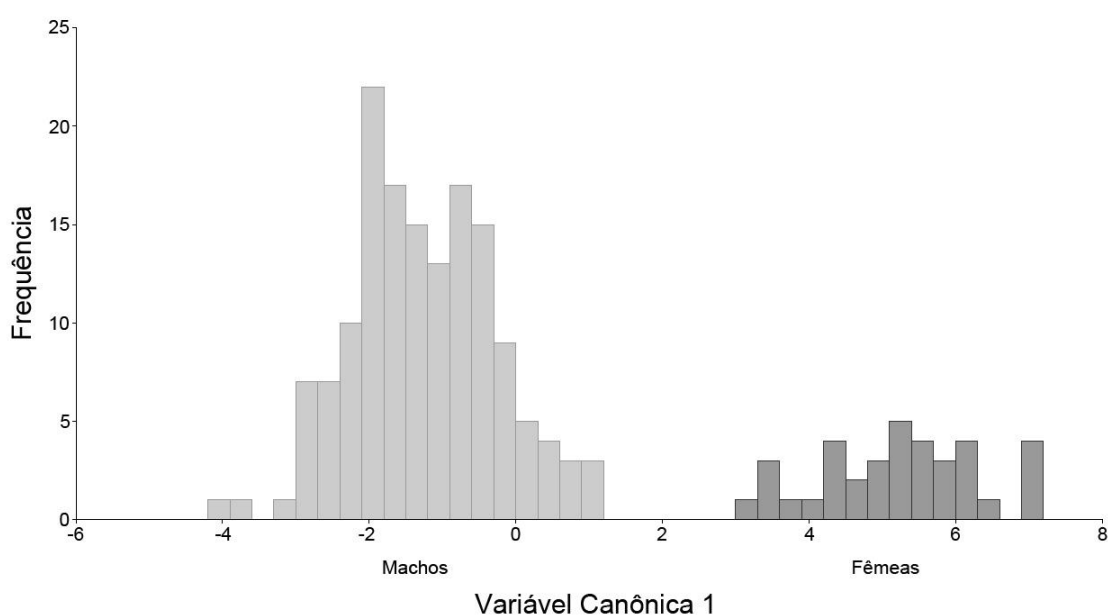
### 4.3.3 Qual a variação de conformação da asa em cada grupo?

A Análise De Variáveis Canônicas para ambos os sexos de *Microcerella halli*, fornece a informação de que apenas uma variável canônica explica 100% da variação total entre os dois grupos (Tabela 16).

**Tabela 16.** Resumo da Análise de Variáveis Canônicas entre machos e fêmeas de *Microcerella halli*.

Variável Canônica	Autovalores	% de Variância	% de Variância Acumulada
CV1	6,66014384	100,000	100,000

A projeção dos indivíduos em relação a esse único eixo demonstra uma definição bem aparente entre os sexos de *M. halli* (Figura 21), não apresentando sobreposição, de modo que as fêmeas encontram-se mais relacionadas aos valores positivos do eixo e os machos aos negativos.



**Figura 21.** Histograma de distribuição dos indivíduos ao longo da CV1 resultante da comparação entre as asas dos machos e fêmeas de *M. halli*. As fêmeas estão representadas pelas barras mais escuras e os machos pelas mais claras. Notar que há grande diferenciação entre os sexos e nenhuma sobreposição entre eles.

Em relação à deformação dos pontos, foi possível perceber que as diferenças entre os sexos são muito pequenas, difíceis de serem observadas graficamente. Para tanto, foi realizada uma maximização das deformações dos marcos anatômicos através do aumento da escala de

visualização de 10 (padrão adotado para as demais análises) para 20. Isso permite uma visualização gráfica mais eficiente salientando as deformações.

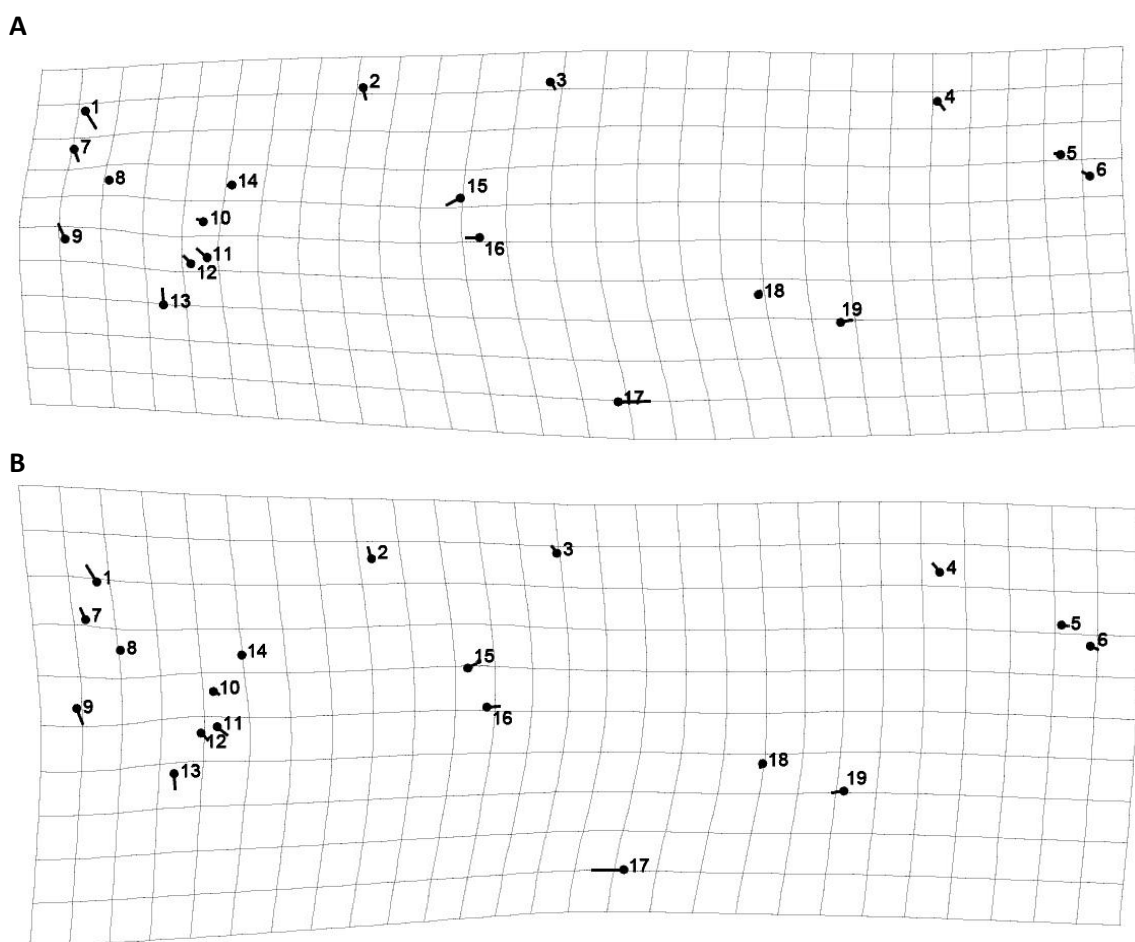
Podemos notar que a grande maioria dos pontos sofre alterações quando se observa as grades de deformação, com exceção dos pontos 8, 10, 14 e 18. Os pontos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 11, 12, 13, 15, 16, 17 e 19 são responsáveis pelas transformações observáveis nas grades.

A grade de deformação e a reconstrução gráfica obtida em referência às conformações de asas das fêmeas de *M. halli*, pode ser observada nas figuras 22A e 23A. De acordo com os vetores observados nas grades e os pontos localizados nas reconstruções, observamos que os pontos 1 e 7 deslocam-se posteriormente, diminuindo o tamanho da área da base da asa. Tal como esses dois marcos, os pontos 2, 3 e 4 também sofrem deformações cujos vetores tendem a seguir a direção da margem posterior da asa, com tendências à margem apical. Já os pontos 5 e 6 apresentam deformações não muito pronunciadas (em comparação aos pontos já descritos), e seus vetores seguem em direção à região anterior da asa. Os pontos 9, 11 e 12 apresentam deformações bem acentuadas, cujos vetores seguem em direção à base da asa, enquanto que o vetor do ponto 13 segue de forma transversal ao comprimento da asa em direção à região anterior. Os pontos 15 e 16 apresentam deformações no sentido da margem basal, ao contrário dos marcos 17 e 19 que partem para outro caminho, de modo longitudinal ao comprimento da asa em direção à margem anterior. Como decorrência desses pontos, as asas das fêmeas acabam por apresentar uma conformação estreita e pontiaguda em relação à configuração consenso. Isso decorre principalmente devido aos pontos 1, 2, 3, 4 e 7, que definem uma conformação mais estreita, aos pontos 9, 11, 12, 13, 15 e 16 que diminuem a região basal da asa e aos pontos 5 e 6 que se deformam de modo a caracterizar a asa com uma conformação levemente mais aguçada (Figura 23A).

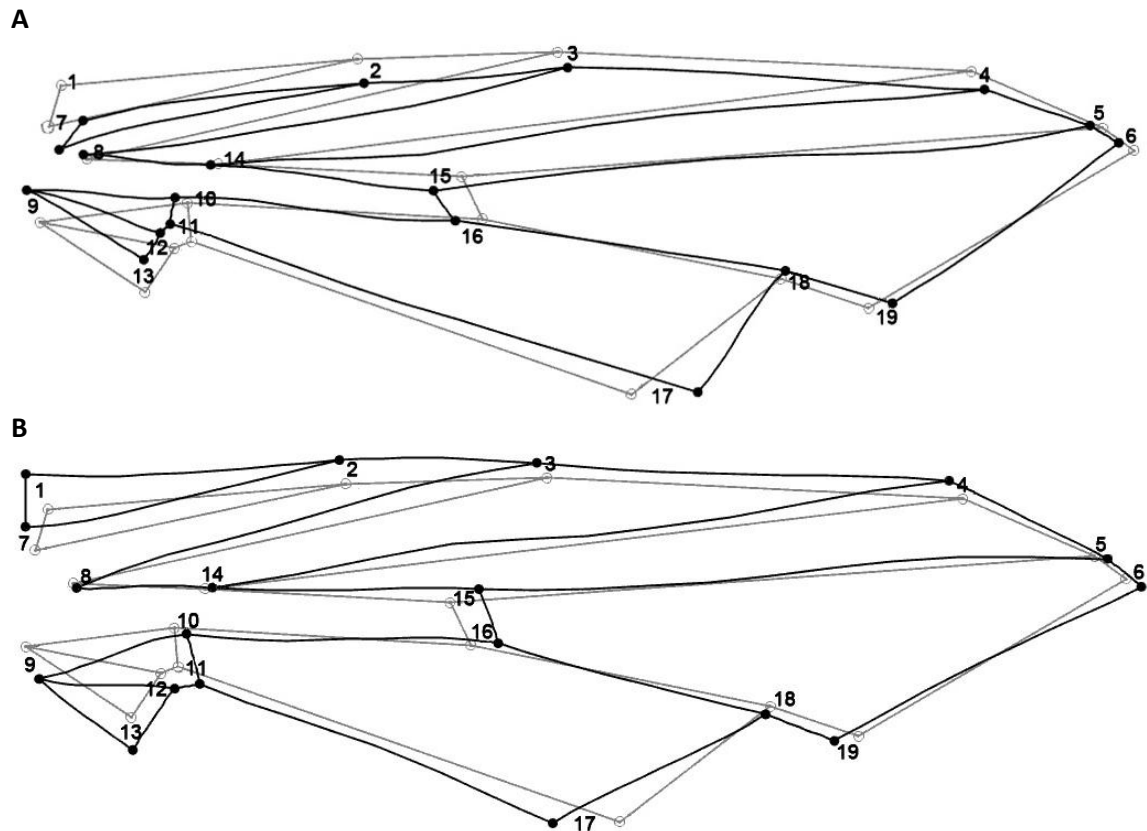
A grade de deformação e a reconstrução (Figura 22A e 23B) que demonstra as variações ocorrentes nos pontos das asas dos machos, exprime que os pontos 1 e 7 sofrem deformações em direção à porção antero-basal da asa. Já os pontos 2, 3 e 4 tendem a se deslocar em direção à margem anterior da asa. Todos esses marcos citados (1, 2, 3, 4 e 7) promovem uma expansão perpendicular em relação ao comprimento da asa, tendendo a uma alargamento da mesma. Os pontos 5 e 6 sofrem leves deformações em direção à margem apical da asa, promovendo uma leve expansão nesse sentido. Os marcos caracterizados pelos números 9, 11, 12 e 13 apresentam vetores em direção à margem posterior da asa, promovendo um alargamento bem evidente da região basal. Os pontos 15 e 16 se deformam de maneira longitudinal em relação ao comprimento da asa em direção à margem apical, e de maneira

oposta deslocando-se também longitudinalmente, só que em direção à margem basal, onde ocorrem os vetores dos pontos 17 e 19. Como decorrência dessas deformações os machos possuem um formato de asa bem mais alargado e robusto. Essas deformações podem ser melhor observadas na figura 23B.

Com base nas descrições das deformações de grade (Figura 22) e na reconstrução gráfica das asas de machos e fêmeas de *M. halli* em relação à configuração consenso (Figura 23), nota-se que as asas das fêmeas de *M. halli* apresentam um formato estreito e rombudo, passo que as asas dos machos apresentam um formato mais alargado e quadrado.



**Figura 22.** Diagrama de deformação derivado do CV1 resultante da comparação entre as asas dos machos e das fêmeas da espécie *M. halli*. **A** - Representação do extremo positivo, onde há maior distribuição dos indivíduos desse sexo. Os vetores escuros representam as direções das deformações da configuração do gênero em relação à configuração consenso e a grade clara representa as deformações nas asas das fêmeas de *M. halli*. **B** - Representação do extremo negativo onde há maior distribuição dos indivíduos desse sexo. Os vetores escuros representam as direções das deformações da configuração do gênero em relação à configuração consenso e a grade clara representa as deformações nas asas dos machos de *M. halli*.



**Figura 23.** Reconstruções gráficas das asas derivadas das deformações obtidas com a CV1 resultante da comparação entre as asas dos machos e das fêmeas da espécie *M. halli*, com escala de visualização 20. **A** - Reconstrução gráfica das asas de fêmeas de *M. halli*. As linhas mais escuras demonstram a configuração de asa das fêmeas e as linhas mais claras, a configuração consenso. Em comparação a esta configuração, as fêmeas de *M. halli* possuem um formato de asa mais estreito e pontiagudo. **B** - Reconstrução gráfica das asas de machos de *M. halli*. As linhas mais escuras demonstram a configuração de asa dos machos e as linhas mais claras a configuração consenso. Em comparação a esta configuração, os machos de *M. halli* possuem um formato de asa mais alargado e quadrado.

#### 4.4 Análise de dimorfismo sexual entre machos de *Oxysarcodexia* e machos e fêmeas de *Microcerella*

##### 4.4.1 Qual a variação de conformação da asa em cada grupo?

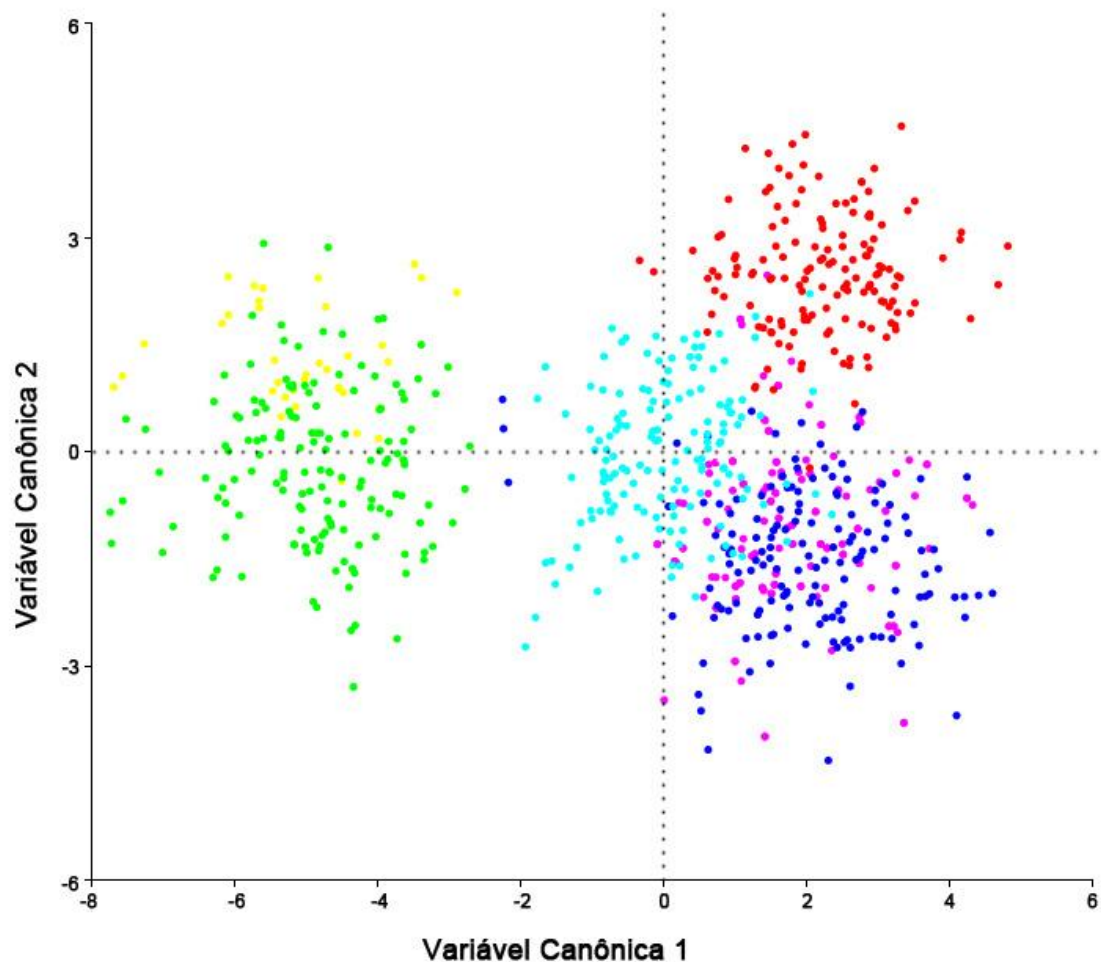
Foram obtidos cinco eixos com a realização da CVA, correspondendo a cinco variáveis canônicas. Há a explicação de 100% da variação total entre os gêneros *Microcerella* e *Oxysarcodexia* baseando-se na diferenciação entre machos e fêmeas.

As duas primeiras variáveis canônicas explicam mais de 77% da variação total encontrada entre os gêneros, como é possível observar na tabela 17.

**Tabela 17:** Resumo da Análise de Variáveis Canônicas entre machos de *Oxysarcodexia* e machos e fêmeas de *Microcerella*.

Variável Canônica	Autovalores	% de Variância	% de Variância Acumulada
<b>CV1</b>	8,07527728	62,667	62,667
<b>CV2</b>	1,94703252	15,110	77,776
<b>CV3</b>	1,34625071	10,447	88,224
<b>CV4</b>	0,89179054	6,921	95,144
<b>CV5</b>	0,62569814	4,856	100,000

As projeções dos indivíduos no primeiro e segundo eixos canônicos (Figura 24) demonstram que há a diferenciação de dois grupos. Um deles está associado aos valores positivos do eixo 1. Esse grupo, caracterizado pela sobreposição dos pontos, corresponde ao gênero *Oxysarcodexia*, exposto pela soma da representação das quatro espécies (*O. culmiforceps*, *O. paulistanensis*, *O. riograndensis* e *O. thornax*). Do mesmo modo, o outro grupo passível de ser observado corresponde à soma da representação dos pontos de machos e fêmeas da espécie *M. halli*, caracterizado pela contiguidade dos pontos associados aos valores negativos no primeiro eixo canônico.



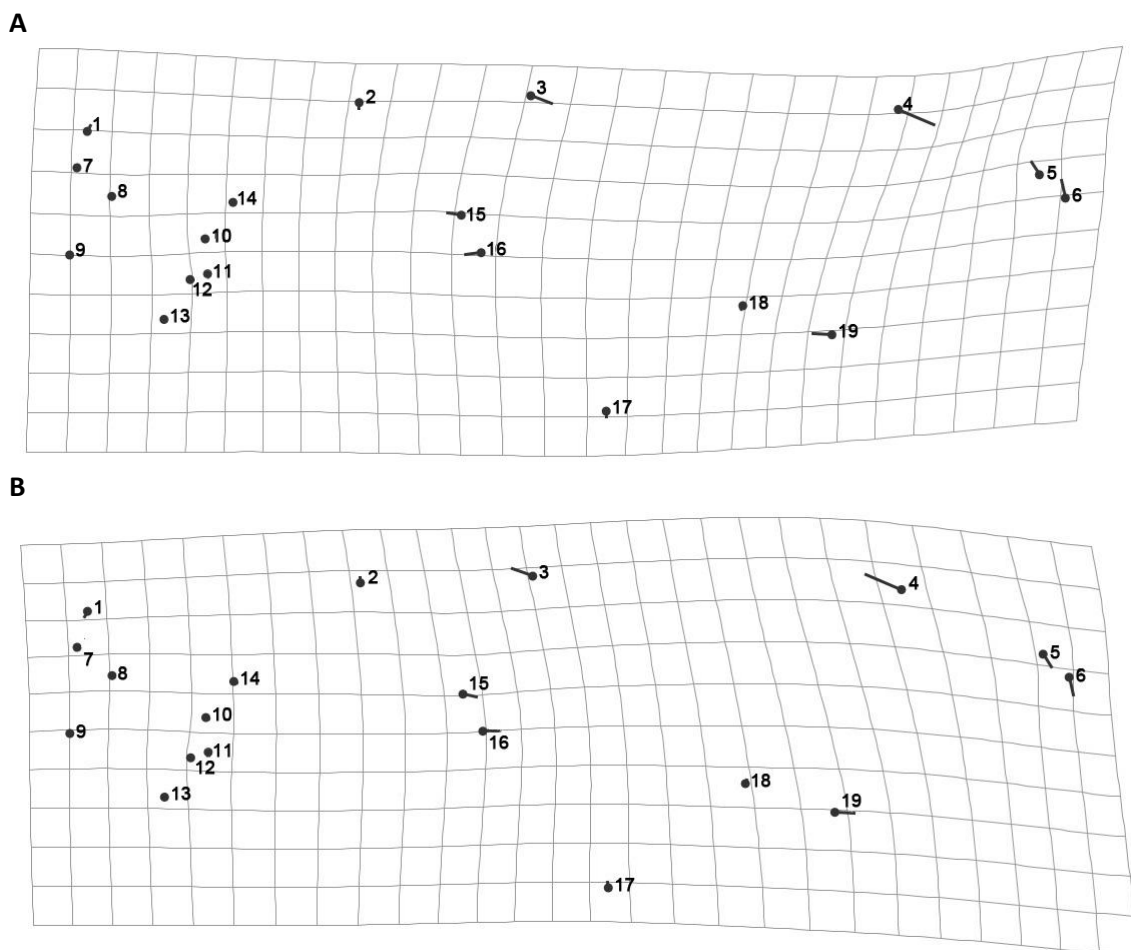
**Figura 24.** Diagrama de dispersão em relação à CV1 e CV2 das resultantes da comparação entre as asas dos machos das espécies *O. culmiforceps*, *O. paulistanensis*, *O. riograndensis* e *O. thornax*, e os machos e fêmeas da espécie *M. halli*. Os machos de *O. culmiforceps* estão representados pelos pontos vermelhos, os de *O. paulistanensis* pelos pontos azul claros, os de *O. riograndensis* pelos pontos azul escuros e os de *O. thornax* pelos pontos rosa. As fêmeas de *M. halli* estão representadas pelos pontos amarelos e os machos pelos pontos verdes. Notar que há a diferenciação de dois grupos: *O. culmiforceps* + *O. riograndensis* + *O. paulistanensis* + *O. thornax* (representando o gênero *Oxysarcodexia*) e machos + fêmeas de *M. halli* (representando o gênero *Microcerella*).

Os pontos 3, 4, 5, 6, 15, 16 e 19 são os responsáveis pelas transformações que podem ser observadas nas grades da figura 25.

A grade de deformação obtida em referência às conformações de asas do grupo de espécies responsáveis por representar o gênero *Oxysarcodexia* (*O. culmiforceps*, *O. paulistanensis*, *O. riograndensis* e *O. thornax*) pode ser observada nas figuras 25A. Os vetores dos pontos 3 e 4 se deslocam em direção ao eixo ântero-basal da asa. Os pontos 5 e 6 sofrem deformações em direção ao eixo posterior da asa, e em contrapartida, os pontos 15, 16 e 19 sofrem deformações no sentido longitudinal ao comprimento da asa direção ao ápice.

A grade que representa as deformações dos pontos 3, 4, 5, 6, 15, 16 e 19 para o grupo que une os machos e fêmeas de *M. halli* está representado na figura 25B. Os pontos 3 e 4 deslocam-se obliquamente em direção ao ápice da asa, enquanto que os pontos 5 e 6 se deslocam em direção ao eixo anterior. Já os pontos 15, 16 e 19 sofrem deformações longitudinais em direção à base alar.

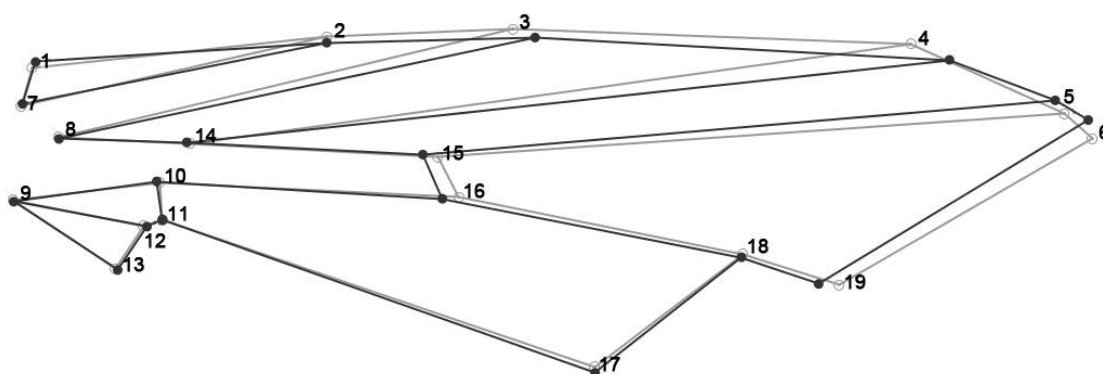
A reconstrução gráfica das asas (Figura 26) com base nas deformações dos marcos anatômicos mostra que as asas do grupo que une os machos de *Oxysarcodexia* são mais arredondadas e alargadas que a configuração consenso (Figura 26A). Em oposição, as asas do grupo que une machos e fêmeas de *M. halli* manifesta uma configuração estreita e afilada, quando comparada à configuração consenso (Figura 26B).



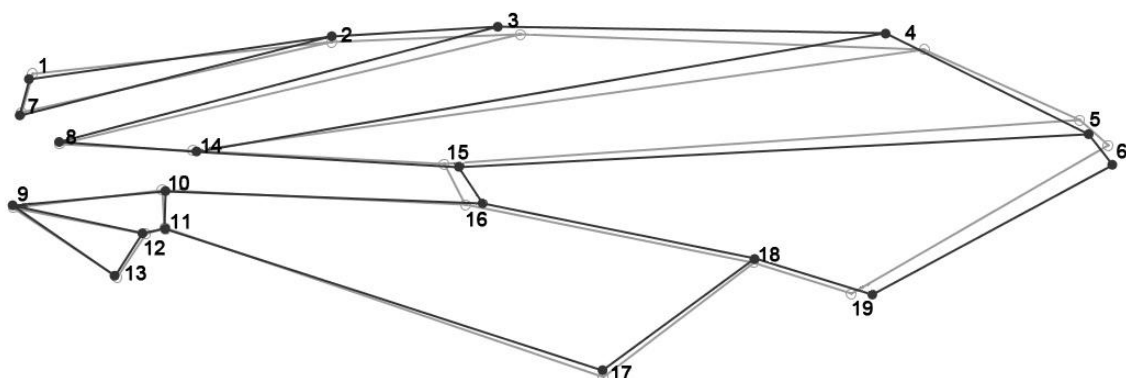
**Figura 25.** Diagramas de deformações derivados do CV1 resultante da comparação entre as asas dos machos de *Oxysarcodexia* (*O. culmiforceps*, *O. paulistanensis*, *O. riograndensis* e *O. thornax*) e dos machos e fêmeas de *M. halli*. **A** - Representação do extremo positivo, onde há maior distribuição dos indivíduos machos do grupo de espécies representando o gênero *Oxysarcodexia* (*O. culmiforceps*, *O. paulistanensis*, *O. riograndensis* e *O. thornax*). Os vetores escuros representam as direções das deformações da configuração dos indivíduos machos das espécies de *Oxysarcodexia* em relação à configuração consenso e a grade clara representa as deformações da configuração dos machos das espécies de *Oxysarcodexia*. **B** - Representação do extremo negativo, onde há maior distribuição dos indivíduos de machos e fêmeas de *M. halli*. Os vetores escuros representam as direções das

deformações da configuração dos indivíduos de *M. halli* em relação à configuração consenso e a grade clara representa as deformações da configuração dos indivíduos de *M. halli*.

**A**



**B**



**Figura 26.** Reconstruções gráficas das asas derivadas das deformações obtidas com a CV1 resultante da comparação entre as asas dos machos de *Oxysarcodexia* (*O. culmiforceps*, *O. paulistanensis*, *O. riograndensis* e *O. thornax*) e dos machos e fêmeas de *M. halli*, com escala de visualização 10. **A** - Reconstrução gráfica das asas de machos dos indivíduos do grupo de espécies representando o gênero *Oxysarcodexia* (*O. culmiforceps*, *O. paulistanensis*, *O. riograndensis* e *O. thornax*). As linhas mais escuras demonstram a configuração de asa dos indivíduos machos das espécies de *Oxysarcodexia* e as linhas mais claras, a configuração consenso. Em comparação a esta configuração, os machos pertencentes ao grupo de *Oxysarcodexia* possuem um formato de asa mais largo e arredondado. **B** - Reconstrução gráfica das asas de machos e fêmeas de *M. halli*. As linhas mais escuras demonstram a configuração de asa dos machos e as linhas mais claras a configuração consenso. Em comparação a esta configuração, os machos de *M. halli* possuem um formato de asa mais alargado e quadrado.



#### 4.5 Comentários sobre os dados obtidos

Os padrões de venação alar de diferentes ordens de insetos e de famílias pertencentes à mesma ordem possuem uma enorme variação no número de veias, de posição e diferenciação (De Celis & Diaz-Benjumea, 2003). Sabe-se que em Diptera o tamanho da asa é geralmente proporcional ao tamanho do corpo e embora as reduções do número e/ou padrão de veias possam ser encontradas em asas com tamanhos menores, não há uma correlação precisa entre o padrão de veias e o tamanho das asas (De Celis & Diaz-Benjumea, 2003). Quando se compara as espécies de Diptera pertencentes a uma mesma família ou a famílias diferentes, asas de dimensões muito distintas podem apresentar um padrão de veias quase idêntico (De Celis & Diaz-Benjumea, 2003).

Observado os resultados obtidos é possível perceber que a conformação alar total é muito similar para todas as espécies. Entretanto, demonstrando variações de forma bem evidentes entre as espécies trabalhadas. Essas variações encontram-se localizadas nas veias, não abrangendo a conformação das asas como um todo. As mudanças das veias dentro das conformações das asas localizam-se em pontos específicos, em regiões determinadas.

Como já especificado, o tamanho das asas está diretamente relacionado ao tamanho corporal dos insetos. Para a classe em geral, as fêmeas tendem a ser maiores que os machos, característica essa que promove uma vantagem sobre a fecundidade para as fêmeas que apresentam maior porte (David *et al.*, 2003; Lyra *et al.*, 2010). Contudo, a análise realizada abrangendo machos e fêmeas de *M. halli* (Figura 20), demonstra que o tamanho alar dos machos é maior que o das fêmeas. Apesar de não tão comum para insetos, táxons em que os machos apresentam tamanhos maiores são mais raros e ocorrem normalmente em casos em que o tamanho do macho favorece a competição no que se refere à busca por parceiras ou territórios (David *et al.*, 2006). Deste modo, o tamanho dos machos é uma das principais características de demanda na seleção por parceiros. Machos maiores liberam maior quantidade de feromônios e são mais agressivos e competitivos em relação aos menores, tendo maior probabilidade de fecundar as fêmeas (McLain, 1980). Essas características promovem grande vantagem reprodutiva, pois o sucesso reprodutivo das fêmeas de *M. halli* provavelmente envolve a seleção de parceiros com maior aptidão biológica, tal como ocorre para tantos outros grupos de Insecta (McLain *et al.*, 1990; Bonduriansky & Rowe, 2003).

O que determina o tamanho dos espécimes em ambientes cadavéricos são principalmente as variáveis de densidade de indivíduos e quantidade de alimento. Isso decorre

sobretudo no que se refere à competição por recursos alimentares. Em substratos discretos e efêmeros, como é o caso das carcaças, as larvas dos Diptera competem por alimento e cada uma procura ingerir o máximo de nutrientes no menor intervalo de tempo possível, antes que os recursos acabem (Goodbrod & Goff, 1990). Havendo uma alta densidade de larvas em um mesmo substrato, a disponibilidade de alimento torna-se mais escassa. Essa limitação de alimento e espaço induz a uma redução do tamanho e peso do adulto, o que reflete a quantidade e qualidade do alimento consumido durante o estágio larval (Goodbrod & Goff, 1990; Reis *et al.*, 1994).

Em experimentos realizados com substratos cuniculares na mesma área e estação do ano do experimento realizado para o presente estudo (Vairo, comunicação pessoal), a frequência das espécies *O. culmiforceps*, *O. paulistanensis* e *O. thornax* foi verificada na segunda fase de decomposição (inchaço) (Payne, 1965), enquanto que *O. riograndensis* foi encontrada na terceira fase de decomposição (ativa) (Payne, 1965). A análise de tamanho de centróide (Figura 12) descreve que *O. culmiforceps*, *O. paulistanensis* e *O. thornax* possuem tamanhos similares, enquanto que *O. riograndensis* possui tamanho menor de asa em comparação às outras três espécies. Essa diferença de tamanho pode estar relacionada à disponibilidade de alimento (que diminui conforme a degradação do substrato pelos imaturos) e à prosperidade de competição (que tende a aumentar conforme a diminuição de disponibilidade do substrato), relacionadas à chegada das espécies nas determinadas fases de decomposição (Payne, 1965), o que influencia diretamente a viabilidade dos adultos resultantes. Ao contrário das espécies de *Oxysarcodexia* citadas, não foi possível obter comparações de resultados para *M. halli* referente à relação do tamanho dos indivíduos com a frequência nas carcaças. Isso não pode ser realizado devido à ausência de observação de dados consistentes em relação à presença de *M. halli* nesses substratos.

O objetivo principal desse estudo, que visa a utilização da morfometria geométrica como técnica útil para a resolução de problemas taxonômicos, procurando discriminar os integrantes de um táxon de outros que não são do mesmo táxon, apresenta-se como eficiente. A separação entre as unidades *Microcerella* e *Oxysarcodexia* apresenta uma disposição gráfica (Figura 7) bem distinta, com valores estatísticos pronunciados (Tabela 6) demonstrando diferenças de conformação (Tabela 5) e de dimensão (Tabela 4 e Figura 6) consideráveis entre os gêneros; resultados esses com chances mínimas (0,5%) (Tabela 7) de terem ocorrido ao acaso. O mesmo pode ser observado nas análises referente às espécies *O. culmiforceps*, *O. paulistanensis*, *O. riograndensis* e *O. thornax*. Nos resultados observados é possível discriminar

facilmente uma espécie da outra com base na localização dos pontos nos eixos ortogonais (Figuras 13 e 14) e respectivos resultados estatísticos (Tabela 11), refletindo grande diferença na conformação (Tabela 9) e no tamanho (Tabela 10 e Figura 12) das asas das espécies. É possível verificar uma possibilidade muito baixa de esses resultados terem ocorrido fortuitamente (com uma probabilidade média em torno de 2%) (Tabela 12).

A análise feita entre machos de um gênero e machos e fêmeas de outro, demonstra grande êxito na separação de grupos no que se refere ao sexo. Baseando-se na no diagrama de dispersão (Figura 24) obtido em relação à primeira variável canônica (Tabela 17), é possível notar uma clara disposição dos indivíduos associados aos valores positivos e negativos, de modo que ambos os gêneros se encontram bem diferenciados em porções discrepantes dos eixos ortogonais. Foi possível observar através da análise entre os machos de *Oxysarcodexia* e machos e fêmeas de *Microcerella*, que as deformações são muito similares às análises contendo apenas machos de *Oxysarcodexia* e *Microcerella* (Figuras 8 e 25). Pode-se observar variações nos mesmos marcos, nas mesmas direções, em ambas as análises (Figuras 8 e 25). O mesmo ocorre no que se refere à reconstrução gráfica das asas (Figuras 9 e 26). A comparação da conformação alar demonstra características das asas em contraposição à configuração consenso muito próximas às análises em que foram utilizados apenas indivíduos machos (Figuras 9 e 26). Isso tudo demonstra um grande êxito na diferenciação de gêneros utilizando as fêmeas, tal como pode ser observado nas análises em que há a utilização apenas de machos.

Esses resultados demonstram grande eficácia na separação de táxons. No que se refere à separação de gêneros utilizando as fêmeas, a importância pode ser ainda maior devido ao apelo de discriminação de fêmeas para Sarcophagidae. A extrapolação dos dados dos indivíduos do sexo masculino das demais espécies, realizada com o intuito de efetuar a identificação das fêmeas com base na conformação alar dos machos, apresenta grandes possibilidades de viabilidade.

## **5. CONCLUSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Todas as análises realizadas no presente trabalho utilizando a morfometria geométrica demonstraram grande êxito no que se refere aos objetivos propostos. Em relação à diferenciação de táxons e ao dimorfismo sexual, as análises exprimiram resultados satisfatórios, apresentando um ótimo desempenho na diferenciação dos gêneros, espécies e sexos entre as cinco espécies de Sarcophagidae trabalhadas.

O ótimo funcionamento da técnica na diferenciação dos gêneros, espécies e sexos das cinco espécies de Sarcophagidae, leva a acreditar que o procedimento pode servir como técnica auxiliar para os 'dilemas morfológicos' de Sarcophagidae, já que a identificação dos exemplares não pode ser considerada como fácil, em especial para não taxônomos.

Apesar da escassez de trabalhos que confirmem os resultados obtidos envolvendo a análise morfométrica para a família, esse trabalho funciona como um ponto de partida para talvez, no futuro, servir como fonte para permitir e auxiliar a delimitação das espécies envolvidas. Isso pode ser possível principalmente se considerarmos o uso de caracteres múltiplos por acumulação como fonte para a verificação taxonômica de caracteres morfológicos. Sendo assim, a morfometria geométrica pode auxiliar a distinção de espécies de modo efetivo e simples, que somada à taxonomia como um todo, pode promover maior robustez à análise dos indivíduos e às suas relações, auxiliando para a delimitação de espécies de maneira mais confiável.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, L.M.; RIBEIRO-COSTA, C.S & L. MARINONI. 1998. **Manual de Coleta, Conservação, Montagem e Identificação de Insetos**. Editora Holos, Ribeirão Preto. 78p.
- AMORIM, D.S.; SILDA, V.C. & M.I.P.A. BALBI. 2002. Estado do conhecimento dos Diptera Neotropicais. p. 29-36. In: Costa, C.; S.A. Vanin; J.M. Lobo & A. Melic. **Proyecto de Red Iberoamericano de Biogeografía y Entomología Sistemática PRIBES 2002**. Vol. II. Monografias Tercer Milenio, Sociedad (SEA) & Cited, Zaragoza. 329 p.
- AMORIM, J.A. 2009. **Levantamento de sarcófagídeos (Diptera) do Brasil incluindo a caracterização molecular de *Peckia (Patonella) intermutans* (Walker)**. Tese de Mestrado. Universidade Estadual Paulista. 89 p.
- AYTEKIN, S.; AYTEKIN, M. & A. BULENT. 2009. Effect of different larval rearing temperatures on the productivity (Ro) and morphology of the malaria vector *Anopheles superpictus* Grassi (Diptera: Culicidae) using geometric morphometrics. **Journal of Vector Entomology** 34: 32-42.
- BAYLAC, M. & T. DAUFRESNE. 1996. Wing venation variability in *Monarthropalpus buxi* (Diptera, Cecidomyiidae) and the quaternary coevolution of box (*Buxus sempervirens* L.) and its midge: a geometrical morphometric analysis. p. 285-301. In: Marcus, L.F.; Corte, M.; Loy, A.; Naylor, G.J.P. & D. E. Slice. **Advances in Morphometrics**. NATO-ASI Series A, Plenum Press, New York. 630 p.
- BONDURIANSKY, R. & L. ROWE. 2003. Interactions among mechanisms of sexual selection on male body size and head shape in a sexually dimorphic fly. **Evolution** 57: 2046-2053.
- BOOKSTEIN, F.L. 1991. **Morphometric tools for landmark data: geometry and biology**. Cambridge University Press, Cambridge. 455 p.
- BYRD, J.H. & J.L. CASTNER, 2010. Insects of Forensic Importance. p. 39-126. In: Byrd, J.H. & J.L. Castner (Eds.): **Forensic Entomology. The Utility of Arthropods in Legal Investigations**. 2 ed. CRC Press, New York. 681 p.
- CALLE, D.A.; QUIÑONES, M.L.; ERAZO, H.J. & N. JARAMILLO. 2008. Discriminación por morfometría geométrica de once espécies de *Anopheles (Nyssorhynchus)* presentes en Colombia. **Biomédica** 28: 371-385.

- CAMARA, M.; CARO-RIAÑO, H.; RAVEL, S.; DUJARDIN, J.P.; HERVOUET, J.P.; DE MEEUS, T.; KAGBADOUNO, M.K.; BOUYER, J. & P. SOLANO. 2006. Genetic and morphometric evidence population isolation of *Glossina palpalis gambiensis* (Diptera: Glossinidae) on the Loos Island, Guinea. **Journal of Medical Entomology** 43: 853-860.
- CAMPOBASSO, C.P.G.; VELLA, D. & F. INTRONA. 2001. Factors affecting decomposition and Diptera colonization. **Forensic Science International** 120: 18-27.
- CARVALHO, L.M.L. & A.X. LINHARES. 2001. Seasonality of insect succession and pig carcass decomposition in a natural Forest area in southeastern Brazil. **Journal of Forensic Sciences** 46: 604-608.
- CARVALHO, C.J.B. de & C.A. MELLO-PATIU. 2008. Key to the adults of the most common forensic species of Diptera in South America. **Revista Brasileira de Entomologia** 52: 390-406.
- CATTS, E.P. & M.L. GOFF. 1992. Forensic Entomology in criminal investigation. **Annual Review of Entomology** 37: 253-272.
- CORTI, M.; FADDA C.; SIMON, S. & E. NEVO. 1996. Size and shape variation in the mandible of the fossorial rodent *Spalax ehrenbergi*. In: Marcus LF, Corti M, Loy A, Naylor G, Slice D (Eds.). **Advances in morphometrics**. Il Ciocco, Italy; Plenum Press, New York. 303-310.
- DAVID, J.R.; P., GIBERT, P., MIGNON-GRASTEAU, S.; LEGOUT, H.; PE'TAVY, G.; BEAUMONT, C. & B. MORETEAU. 2003. Genetic variability of sexual size dimorphism in natural population of *Drosophila melanogaster*: an isofemale-line approach. **Journal of Genetics** 82: 79-88.
- DAVID, J.R.; ARARIPE, L.O.; BITNER-MATHE, B.C.; CAPY, P.; GON I,B.; KLACZKO, L.B.; LEGOUT, H.; MARTINS, M.B.; VOUIDIBIO, J.;YASSIN, A. & B. MORETEAU. 2006. Sexual dimorphism of body size and sternopleural bristle number: a comparison of geographic populations of an invasive cosmopolitan drosophilid. **Genetica** 128 : 109-122.
- DE ARRIBA, A.V. & S.R. COSTAMAGNA. 2006. Desarrollo post-embrionario de *Microcerella acrydiorum* (Diptera: Sarcophagidae) bajo condiciones de laboratorio. **Revista de La Sociedad Entomológica Argentina** 65: 55-61.
- DE CELIS, J.F. & F.J. DIAZ-BENJUMEA. 2003. Developmental basis for vein pattern variations in insect wings. **The International Journal of Developmental Biology** 47: 653-663.

DE LA RIVA, J.; LE PONT, F.; MATIAS, A.; MOLLINEDO, S. & J.P. DUJARDIN. 2001. Wing geometry as a tool for studying the *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) complex. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** 96: 1089-1094.

DRYDEN, I.L. & K.V. MARDIA. 1998. **Statistical shape analysis**. John Wiley & Sons, New York. 347 p.

DUJARDIN, J.P. 1999 **Introducción a la morfometría com énfasis en Phlebotominae y Triatominae**. <http://eclat.fcien.edu.uy/espaniol/Libros.htm>. Acesso: Janeiro de 2011.

DUJARDIN, J.P.; LE PONT, F. & M. BAYLAC. 2003. Geographical versus interspecific differentiation of sand flies (Diptera: Psychodidae): a landmark data analysis. **Bulletin of Entomological Research** 93: 87-90.

DVORAK, V.; AYTEKIN, A.M.; ALTEN, B.; SKARUPOVA, S.; VOTYPKA, J. & P. VOLF. 2006. A comparison of the intraspecific variability of *Phlebotomes sergenti* Parrot, 1917 (Diptera: Psychodidae). **Journal of Vector Ecology** 31: 229-238.

ERZINCIOGLU, Z.Y. 2000. **Maggots, Murder and Men**. St. Martin's Press, New York. 256 p.

FERREIRA, M.J.M. 1979. Sinantropia de Dípteros Muscóideos de Curitiba. II: Sarcophagidae. **Revista Brasileira de Biologia** 39 : 773-781.

FORNEL, R. 2005. **Estudo da variação morfológica craniana entre quatro blocos populacionais de *Ctenomys lami* (Rodentia, Ctenomyidae) através de morfometria geométrica**. Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 78 p.

FRANCUSKI, L.; VUJIC, A.; LUDOSKI, J. & V. MILANKOV. 2009. Identification of the species *Cheilosia variabiles* group (Diptera: Syrphidae) from the Balkan Peninsula using wing geometric morphometrics, with the revision of status of *C. melanopa* Vujic, 1996. **Contributions to Zoology** 78: 129-140.

GENNARD, 2007. **Forensic Entomology: An introduction**. John Wiley & Sons Ltd, England. 224 p.

GOODBROD, J.R. & M.L. GOFF. 1990. Effects of larval population density on rates of development and interactions between two species of *Chrysomya* (Diptera: Calliphoridae) in laboratory culture. **Journal of Medical Entomology** 27: 338-343.

HAIR, J.F.; TATHAM, R.L.; ANDERSON, R.E. & W. BLACK. 1998. **Multivariate Data Analysis**. 5 ed. Prentice-Hall, New Jersey. 768 p.

HOULE, D.; MEZEY, J.; GALPERN, P. & A. CARTER. 2003. Automated measurement of *Drosophila* wings. **Evolutionary Biology** 3: 25-37.

JIRAKANJANAKIT, N. & J.P. DUJARDIN. 2005. Discrimination of the *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) laboratory lines based on wing geometry. **The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health** 36: 858-861.

JIRAKANJANAKIT, N.; LEEMONGSAWAT, S.; THONGRUNGIAT, C.; APIWATHNASORN, S. SINGHANIYOM, C.; BELLEC, C. & J.P. DUJARDIN. 2008. Influence of larval density or food variation on the geometry of the wing of *Aedes (Stegomyia) aegypti*. **Tropical Medicine & International Health** 12: 1354-1360.

KEH B. 1985. Scope and applications of forensic entomology. **Annual Review of Entomology** 30: 137-154.

KETTLE, D.S. 1984. **Medical and veterinary entomology**. Cross Helm, London and Sydney. 658 p.

KHATTREE, R.; NAIK, D. N. 2000. **Multivariate data reduction and discrimination with SAS Software**. Wiley InterScience.

KITTHAWEE, S. & J.P. DUJARDIN. 2010. The geometric approach to explore the *Bactrocera tau* complex (Diptera: Tephritidae) in Thailand. **Zoology** 113: 243-249.

KLINGENBERG, C.P. 2011. **MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics**. Computer Program. Version 1.02d. Molecular Ecology Resources, advance online. [http://www.flywings.org.uk/MorphoJ\\_page.htm](http://www.flywings.org.uk/MorphoJ_page.htm) Acesso: Janeiro de 2011.

KLINGENBERG, C.P. & G.S. MCINTYRE. 1998. Geometric morphometric of developmental instability: Analyzing pattern of fluctuating asymmetry with Procrustes Methods. **Evolution** 52: 1363-1375.

LJUBINKA, F.; LUDOSKI, J.; ANTE, V. & M. VESNA. 2009. Wing geometric morphometric inferences on species delimitation and intraspecific divergent units in the *Merodon ruficornis* group (Diptera, Syrphidae) from the Balkan Peninsula. **Zoological Science** 26: 301-308.



- LOPES, H.S. 1982. The importance of the mandible and clypeal arch of the first instar larvae in the classification of the Sarcophagidae (Diptera). **Revista Brasileira de Entomologia** 26: 293-326.
- LORD, W.D. & J.R. STEVENSON. 1986. **Directory of forensic entomologists**. Vol. 2. Defense Pest Management Information Analyses Center (Eds.). Walter Reed Army Medical Center, Washington. 42 p.
- LUDOSKI, J.; FRANCUSKI, L.; VUJIC, A. & V. MILANKOV. 2008. The *Cheilosia canicularis* group (Diptera: Syrphidae): species delimitation and evolutionary relationships based on wing geometric morphometrics. **Zootaxa** 1825: 40-50.
- LUEDERWALDT, G. 1911. Os insectos necrophagos paulistas. **Revista do Museu Paulista** 8: 414-433.
- LYRA, M.L.; HATADANI, L.M.; DE AZEREDO-ESPIN, A.M.L & L.B. KLACZKO. 2010. Wing morphometry as a tool for correct identification of primary and secondary New World screwworm fly. **Bulletin of Entomological Research** 100: 19-26.
- McALPINE, J.F.; PETERSON, B.V.; SHEWELL, G.E.; TESKEY, H.J.; VOCKEROTH, J.R. & D.M. WOOD. Eds. 1981. **Manual of Nearctic Diptera**. Vol. 1. Biosystematics Research Institute Ottawa, Ontario. Monograph 28. 674 p.
- McALPINE, J.F.; PETERSON, B.V.; SHEWELL, G.E.; TESKEY, H.J.; VOCKEROTH, J.R. & D.M. WOOD. Eds. 1987. **Manual of Nearctic Diptera**. Vol. 2. Biosystematics Research Institute Ottawa, Ontario. Monograph 28. 675-1332.
- McLAIN, D.K. 1980. Female choice and the adaptative significance of prolonged copulation in *Nezara viridula* (Hemiptera: Pentatomidae). **Psyche** 87: 325-326.
- McLAIN, D.K.; LANIER, D.L. & N.B. MARSH. 1990. Effects of female size, mate size, and number of copulations on fecundity, fertility, and longevity of *Nezaria viridula* (Hemiptera: Pentatomidae). **Heredity** 64: 161-167.
- MELLO-PATIU, C.A. & A.S.P. SOUZA NETO. 2007. Revisão das duas espécies de *Tapacura* Tibana & Lopes, 1985 (Diptera: Sarcophagidae: Sarcophaginae). **Biota Neotropica** 7: 195-198.

MERRITT, R.W.; COURTNEY, G.W. & J.B. KEIPER. 2009. Diptera (Flies, Mosquitoes, Midges, Gnats). p. 284-297. In: Resh, V.H. & R.T. Cardé (Eds.). **Encyclopedia of Insects**. 2 ed. Elsevier, San Diego. 1132 p.

MONTEIRO, L.R. & S.F. dos REIS. 1999. Princípios de morfometria geométrica. Holos Editora, Ribeirão Preto. 189 p.

MORAES, D.A. 2003. **A Morfometria Geométrica e a “Revolução na Morfometria”: localizando mudanças na forma dos organismos**. <http://www.bioetim.hpg.ig.com.br/III-3/Artigos/moraes.htm>. Acesso: Janeiro de 2011.

MORATORE, C. 2009. **Padrões genético-morfológicos em populações de *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae)**. Dissertação de mestrado. Universidade de São Paulo. 79 p.

MORETTI, T.C.; RIBEIRO, O.B.; THYSSEN, P.J. & D.R. SOLIS. 2008. Insects on decomposing carcasses of small rodents in a secondary forest in Southeastern Brazil. **European Journal of Entomology** 105: 691-696.

MOURA, M.O.; CARVALHO, C.J.B. & E.L.A. MONTEIRO-FILHO. 1997. A preliminary analysis of insects of medico-legal importance in Curitiba, State of Paraná. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** 92: 269-274.

MOURA, M.O.; CARVALHO, C.J.B. & E.L.A. MONTEIRO-FILHO. 2005. Estrutura de comunidades necrófagas: efeito da partilha de recursos na diversidade. **Revista Brasileira de Zoologia** 22: 1134-1140.

MUÑOZ-MUÑOZ, F. TALAVERA, S. & N. PAGÈS. 2011. Geometric morphometrics of the wing in the subgenus *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae): from practical implications to evolutionary interpretations. **Journal of Medical Entomology** 48: 129-139.

OLIVEIRA-COSTA, J. 2007. **Entomologia forense: quando os insetos são vestígios**. Vol. 2. Millenium Editora, Campinas. 420 p.

PAPE, T. 1996. Catalogue of the Sarcophagidae of the World (Insecta: Diptera). **Memoirs on Entomology International**. International Associated Publishers, Florida. 558 p.

PAYNE, J.A. 1965. A summer carrion study of the baby pig *Sus scrofa* Linnaeus. **Ecology** 46: 592-602.

PERES-NETO, P.R. 1995. Introdução a análises morfométricas. p. 57-89. In: P.R. Peres-Neto; J.L. Valentin & F.A.S. Fernandez (Eds.). **Tópicos em tratamentos de dados biológicos**. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 161 p.

REIS, S.F.; STANGENHAUS, G.; GODOY, W.A.C.; VON ZUBER, C.J. & O.B. RIBEIRO. 1994. Variação em caracteres bionômicos em função de densidade larval em *Chrysomya megacephala* e *Chrysomya putoria* (Diptera, Calliphoridae). **Revista Brasileira de Entomologia** 38: 33-46.

RICHTSMAYER, J. T., DELEON, V. B. & S.R. LELE. 2002. The Promise of Geometric Morphometrics. **Yearbook of Physical Anthropology** 45:63-91.

ROHLF, F.J. 2010. **TPSRelw, relative warps analysis**. Computer program. Version 1.49. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook, New York. <http://life.bio.sunysb.edu/morph/>. Acesso: Janeiro de 2011.

ROHLF, F.J. 2010. **TPSDig**. Computer program. Version 2.16. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook, New York. <http://life.bio.sunysb.edu/morph/>. Acesso: Janeiro de 2011.

ROHLF, F. J. & L. F. MARCUS. 1993. A Revolution in Morphometrics. **Trends in Ecology & Evolution** 8: 29-132.

SAS Institute Inc. 2008. **JMP**. Computer Program. Version 8.0. SAS Institute Inc.

SLICE, D. BOOKSTEIN, F., MARCUS, L. & F. J. ROHLF. 2003. **A Glossary for Geometric morphometrics**. <http://life.bio.sunysb.edu/morph/glossary/gloss1.html>. Acesso: Janeiro de 2011.

SMITH, K.G.V. 1986. **A manual of forensic entomology**. British Museum (Natural History), London and Cornell University Press, Ithaca, New York. 205 p.

SSYMANK, A.; KEARNS, C.A.; PAPE, T. & F.C. THOMPSON. Pollinating Flies (Diptera): A major contribution to plant diversity and agricultural production. **Tropical Conservancy** 9 : 86-89.

SUKONTASON, K.; SUKONTASON, S.; BOONCHU, N.; CHAIWONG, T.; NGERN-KLUN, R.; SRIPAKDEE, D.; VOGTSBERGER, R.C. & J.K. OLSON. 2004. Antennal sensilla of some forensically important flies in families Calliphoridae, Sarcophagidae and Muscidae. **Micron** 35: 671-679.

THOMPSON, F.C. 2008. **Sarcophagidae**. Biosystematic Database of World Diptera. Version 10.5. 1 record. <http://www.sel.barc.usda.gov/Diptera/names/Status/bdwdstat.htm>. Acesso: Janeiro de 2011.

VAIRO, K.P. 2008. **Chave pictórica para os machos das espécies de Sarcophagidae (Diptera) de possível interesse forense encontradas em carcaças de coelhos em Curitiba, Paraná**. Monografia de conclusão de curso, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 23 p.

VELOSO, H.P. & GÓES-FILHO, L. 1982. Fitogeografia Brasileira - classificação fisionômico-ecológica da vegetação neotropical. Boletim **Técnico do Projeto RADAMBRASIL, Série Vegetação** 1: 1-80.